UNIVERSITE DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U. N° 140 Paris 1948

Contribution à l'étude de l'oxydation periodique des dérivés α-hydroxyamines et α-diamines

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE

Docteur de l'Université de Paris

présentée et soutenue le 7 janvier 1949.

PAR

Marcel GRANDCHAMP

JURY { MM. FLEURY, *Président.*
J. A. GAUTIER, *Professeur.*
J. COURTOIS, *Maître de Conférences.*

PARIS
PRESSES DU TEMPS PRÉSENT
12, RUE LAGRANGE, 12

1948

FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

Nom du Candidat : **GRANDCHAMP.**

Prénom : **Marcel.**

Date de la soutenance :

Numéro d'ordre : Série U. N° 140

1

GRANDCHAMP (**Marcel**). — Contribution à l'étude de l'oxydation periodique des dérivés α-hydroxyamines et α-diaminés

Th. Doct. Univ. Pharm. Paris, 1948. Série U. N° 140.

2

GRANDCHAMP (**Marcel**). — Contribution à l'étude de l'oxydation periodique des dérivés α-hydroxyamines et α-diaminés

Th. Doct. Lniv. Pharm. Paris, 1948. Série U. N° 140.

3

GRANDCHAMP (**Marcel**). — Contribution à l'étude de l'oxydation periodique des dérivés α-hydroxyamines et α-diaminés

Th. Doct. Univ. Pharm. Paris, 1948. Série Ui N° 140.

4

GRANDCHAMP (**Marcel**). — Contribution à l'étude de l'oxydation periodique des dérivés α-hydroxyamines et α-diaminés

Th. Doct. Univ. Pharm. Paris, 1948. Série U. N° 140.

UNIVERSITE DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U. N° 140 Paris 1948

Contribution à l'étude de l'oxydation periodique des dérivés α-hydroxyamines et α-diamines

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE

Docteur de l'Université de Paris

présentée et soutenue le 7 janvier 1949.

PAR

Marcel GRANDCHAMP

JURY { MM. FLEURY, *Président.*
J. A. GAUTIER, *Professeur.*
J. COURTOIS, *Maître de Conférences.*

PARIS
PRESSES DU TEMPS PRÉSENT
12, RUE LAGRANGE, 12

1948

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION :

MM. René FABRE, *Doyen* ✻, ✪ I.
G. CUVIER, *Secrétaire*, ✪ I.
L. JEANDEL, *Rédacteur*, ✪ A.

PROFESSEURS :

MM.	FABRE, ✻, ✪ I.	Toxicologie.
	PICON, ✻, ✪ I.	Chimie minérale.
	DELABY, ✻, ✪ I.	Pharmacie chimique.
	MASCRE, ✻, ✪ I.	Botanique
	SARTORY, C. ✻, ✪ I.	Microbiologie.
	FLEURY, ✻, ✪ I.	Chimie biologique.
	JANOT, ✪ I.	Pharmacie galénique.
	CHARONNAT, ✪ I.	Chimie organique.
	VALETTE, ✪ I.	Zoologie appliquée.
	BEDEL, ✻, ✪ I.	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie.
	PARIS	Histoire natur. des médicaments simples d'origine végétale.
	GUILLOT	Physique.
	GAUTIER, ✪ I.	Chimie analytique.
	RAOUL	Professeur sans chaire.

Doyen Honoraire : M. RADAIS, O. ✻, ✪ I.

Professeurs Honoraires :

MM. DELEPINE, O. ✻, ✪ I. et LEBEAU, O. ✻, ✪ I., Membres de l'institut. PERROT, C. ✻, ✪ I., COUTIERE, O. ✻, ✪ I., BOUGAULT, O. ✻, ✪ I., LUTZ, ✻, ✪, I., GORIS, O. ✻, ✪ I., HERISSEY, O. ✻, ✪ I., LAUNOY, O. ✻, ✪ I.

MAITRES DE CONFERENCES :

MM.	DOMANGE, ✪ I.	Sciences physiques et chimiques.
	CRETE	Sciences naturelles.
	COURTOIS	Sciences physiques et chimiques.
	MORETTE	Sciences physiques et chimiques.
	LAMBIN (Mlle), ✪ I.	Sciences naturelles.
	CAVIER	Sciences naturelles.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM.	CORRIEZ, ✪ I.	Physique.
	HARISPE, travaux pratiques de 1e année .	Chimie générale et pharmaceutique,
	TRUHAUT, ✻, ✪ I.	Chimie 4e année.
	N...	Sciences physiques et chimiques.
	MOREAU	Chimie analytique.
	DEYSSON	Botanique.
	GERMAN	Microbiologie (Ch. de fonctions).

Bibliothécaire en Chef : M. GARNIER, ✪ A.

Bibliothécaire : Mlle LAVAUD, ✪ A.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A Monsieur J. DURAND, Docteur de l'Université de Paris,

A Monsieur V. HASENFRATZ, Sous-Directeur Honoraire au Muséum,

A Monsieur L. ROUSSEAU, Docteur en Pharmacie,

qui nous ont amicalement conseillé
et encouragé dans cette voie

Meis et amicis

A Monsieur le Professeur P. FLEURY

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris

Pharmacien-chef des Hopitaux psychiâtriques de la Seine

hommage de respectueuse gratitude

A Monsieur JEAN COURTOIS

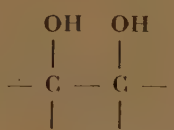
Maitre de Conférences à la Faculté de Pharmacie de Paris

Pharmacien des Hopitaux de Paris

hommage de profonde reconnaissance

INTRODUCTION

Les recherches de MALAPRADE et celles de P. FLEURY ont montré qu'à la température du laboratoire, l'acide periodique pouvait rompre plus ou moins rapidement la liaison unissant deux atomes de carbone dans les composés susceptibles d'être représentés sous la forme :

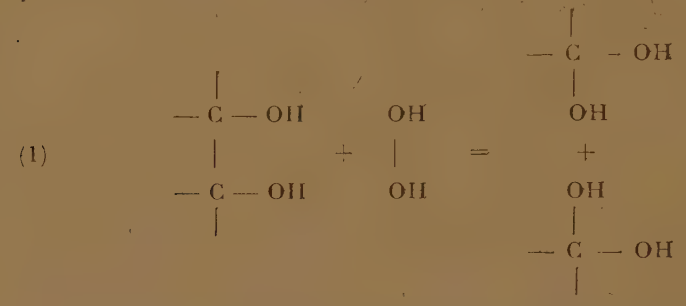


En 1939, NICOLET et SHINN [*34*] signalèrent que certains composés possédant une fonction amine primaire et une fonction alcoolique contiguës pouvaient également être oxydés par l'acide periodique.

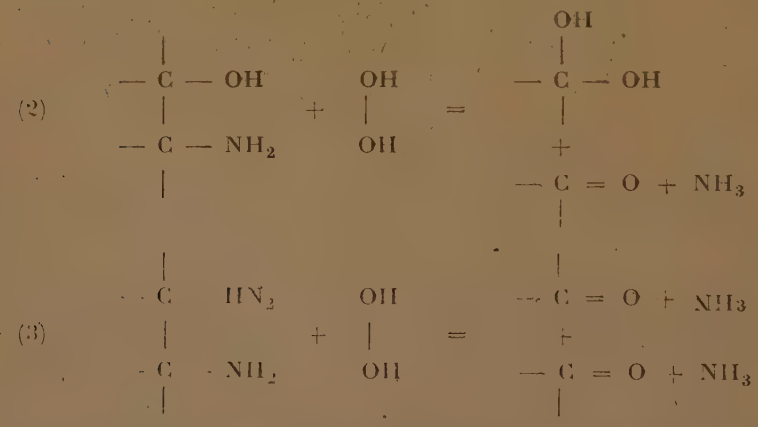
Ces travaux permirent de proposer des techniques originales et spécifiques de titrage de différents corps pour lesquels il n'existait pas de méthode sélective de dosage : c'est ainsi qu'il fut possible de déterminer pour la première fois avec précision la teneur en acides hydroxyaminés des hydrolysats de protéines. Actuellement, la sérine, la thréonine, l'hydroxylysine, la monoéthanolamine sont dosées d'une façon courante à l'aide de l'acide periodique.

Les recherches, déjà nombreuses, ont porté plus spécialement sur le dosage des corps d'intérêt biologique.

Il nous a paru utile de chercher à préciser les règles générales du comportement des composés aminés en présence de l'acide periodique. Les travaux de MALAPRADE, puis de P. FLEURY et de ses élèves, sur les composés organiques non azotés, avaient permis de proposer le schéma d'oxydation suivant :



Ce schéma tient compte, d'une part, du fait que les aldéhydes et les cétones sont oxydés comme s'ils réagissaient sous forme d'hydrates, et d'autre part, du fait que tout se passe comme si l'acide periodique intervenait sous forme de peroxyde d'hydrogène. Nous avons recherché s'il était possible de représenter, par analogie, l'oxydation des corps à fonction amine primaire par l'un ou l'autre des schémas (2) et (3) :



Nous avons pu constater que si, théoriquement, l'attaque se réalise selon ces schémas, la réaction est souvent plus lente que pour les composés non azotés homologues.

Par la suite, nous avons étudié le comportement d'amines secondaires et tertiaires possédant un hydroxyle alcoolique au voisinage de la fonction azotée (composés α-hydroxyaminés), ainsi que celui de l'éthylènediamine (la plus simple des α-diamines).

Au cours de ces recherches, nous avons pu mettre en évidence la très grande influence de la réaction du milieu sur l'oxydation periodique de ces composés aminés.

Enfin, les résultats obtenus nous ont permis de proposer de nouvelles techniques originales pour le dosage d'amino-alcools dans des milieux complexes.

C'est ainsi que nous avons pu mettre au point une méthode de dosage de chacune des trois éthanolamines dans leur mélange.

Nous décrivons également un protocole opératoire permettant de déterminer séparément la colamine et la sérine lorsqu'elles sont associées.

Avant d'entreprendre l'exposé de ces recherches, nous désirons exprimer nos sentiments de profonde et respectueuse gratitude à Monsieur le Professeur P. FLEURY, qui nous a accueilli dans son laboratoire et, après nous avoir indiqué le sujet de ce travail, a bien voulu s'intéresser à nos recherches, ne nous ménageant pas ses conseils autorisés. Nous sommes particulièrement sensible à l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider notre jury d'examen.

Nous exprimons notre respectueuse gratitude à Monsieur le Professeur J. A. GAUTIER, qui a bien voulu examiner notre travail.

Monsieur J. COURTOIS, Maître de Conférences, nous a dirigé pendant toute la durée de nos recherches ; son expérience du problème de l'oxydation periodique, ses encouragements dans les périodes difficiles, nous ont permis de mener à bien notre tâche : nous lui sommes profondément reconnaissant de l'aide constante qu'il a su nous prodiguer.

Nous remercions Monsieur E. CATTELAIN, Assistant de la Chaire, pour son affectueuse sollicitude, et son aide précieuse lors de la préparation de certains des corps utilisés.

Nous gardons le meilleur souvenir de nos camarades, qui, par leur amitié, ont contribué à rendre sympathique l'ambiance du laboratoire.

A la satisfaction que nous ressentons d'y avoir acquis quelque expérience, se mêle cependant un vif regret de quitter cette maison, que nos maîtres et nos camarades nous ont fait aimer sincèrement.

PLAN

PREMIERE PARTIE — *Généralités.*

Chapitre I — Schéma général de l'oxydation periodique.
Action de l'acide periodique sur les composés aminés.

Chapitre II — Techniques analytiques utilisées.

Chapitre III — Séparation des trois éthanolamines à partir du mélange commercial.

DEUXIEME PARTIE — *Etude de l'oxydation periodique de différents composés aminés.*

Chapitre I — Amines primaires

a) amino-alcools { 1° monoéthanolamine ; 2° méthylaminopropanol

b) acides aminés aliphatiques à fonction alcool : sérine

c) acides aminés aliphatiques simples { 1° glycocolle ; 2° alanine

Chapitre II — Amines secondaires : diéthanolamine

Chapitre III — Amines tertiaires { 1° triéthanolamine ; 2° méthyldiéthanolamine

Chapitre IV — Diamines : éthylènediamine

TROISIEME PARTIE — *Applications analytiques.*

Chapitre I — Analyse d'un mélange d'éthanolamines

Chapitre II — Dosage de la sérine et de la colamine dans leurs mélanges.

CONCLUSIONS GENERALES

BIBLIOGRAPHIE

PREMIÈRE PARTIE

GENERALITES

CHAPITRE I

SCHEMA DE L'OXYDATION PERIODIQUE

ACTION DE L'ACIDE PERIODIQUE SUR LES COMPOSES AMINES

MALAPRADE [*31*], en 1928, étudiant l'action de l'acide periodique sur les polyols, a montré que ce réactif pouvait rompre la liaison unissant deux atomes de carbone placés en position contiguë et porteurs de certains groupements fonctionnels.

La réaction suit un processus caractéristique :

a) l'acide periodique est réduit quantitativement en acide iodique ;

b) les carbones porteurs de fonctions alcool primaire sont oxydés à l'état de formaldéhyde ;

c) les carbones porteurs de fonctions alcool secondaire sont oxydés à l'état d'acide formique.

L'équation générale traduisant l'oxydation periodique des polyols peut se formuler :

$$(4) \quad CH_2OH - (CHOH)^n - CH_2OH + (n+1)\ IO_4H = (n+1)\ IO_3H + 2\ HCHO + n\ HCOOH + H_2O$$

A la suite de nombreuses recherches, le champ d'action de l'acide periodique s'est étendu rapidement à différents groupes de composés (1). Rappelons en bref que ces travaux ont apporté à la biochimie un réactif remarquablement spécifique :

Il permet en effet, contrairement aux oxydants classiques, la caractérisation et le dosage des composés formés au cours de la réaction. Ainsi, grâce à l'acide periodique, la structure de certaines molécules hydroxylées - - principalement dans la série des osides, - a pu être enfin établie.

Enfin, l'acide periodique est à la base de nombreuses techniques analytiques originales qui ont apporté une solution souvent élégante à des problèmes jusqu'alors non résolus (dosage d'aldohexoses et de glycols, d'esters phosphoriques, etc...).

L'étude de l'oxydation periodique des dérivés azotés est relativement récente.

Les recherches ont surtout porté sur les acides aminés hydroxylés.

En 1939, NICOLET et SHINN [*34*] montrent que les fonctions amine primaire se comportent dans les composés oxydables de la même façon que les oxhydriles.

Ainsi, la sérine :

(5) $$CH_2OH - CH(NH_2) - COOH + O = HCHO + CHO - COOH + NH_3$$

est oxydée de façon identique à l'acide glycérique :

(6) $$CH_2OH - CHOH - COOH + O = HCHO + CHO - COOH + OH_2$$

Les premiers résultats obtenus dans ce domaine permettent d'envisager un certain parallélisme entre le comportement des polyols et celui des amino-alcools α ; ainsi, l'oxydation de la monoéthanolamine [P. FLEURY et GUITARD, *23*] :

(7) $$CH_2OH - CH_2 - NH_2 + O = 2\ HCHO + NH_3$$

est comparable à celle de l'éthylèneglycol :

(8) $$CH_2OH - CH_2 - OH + O = 2\ HCHO + OH_2.$$

(1) Ces recherches ont fait l'objet de deux exposés récents de J. COURTOIS [*12*, *13*].

Les amines tertiaires paraissent peu oxydables: le diéthylaminoéthanol $(C_2H_5)^2 = N - CH_2 - CH_2OH$ n'est pratiquement pas attaqué [NICOLET et SHINN, *34*].

De même, la choline, hydrate de triméthylammonium, n'est pas oxydable [P. FLEURY et GUITARD, *23*].

Par contre, la diéthanolamine $NH(CH_2CH_2OH)^2$, amine secondaire à fonction alcool, est rapidement oxydée [NICOLET et SHINN, *34*].

Les amino-acides possédant une fonction alcoolique sur le carbone contigu à celui qui supporte la fonction amine présentent le même comportement :

La sérine est très rapidement oxydée en formaldéhyde, acide glyoxylique, et ammoniaque (5).

La thréonine, facteur de croissance découvert en 1937, est attaquée par l'acide périodique, avec libération d'aldéhyde éthylique :

(9) $$CH_3 - CHOH - CH(NH_2) - COOH + O = CH_3CHO + CHO - COOH + NH_3.$$

L'hydroxylysine, de formule $NH_2 - CH_2 - CHOH - CH_2 - CH_2 - CH(NH_2) - COOH$, isolée par VAN SLYKE dans les hydrolysats de gélatine, est le seul amino-acide précipitable par l'acide phosphotungstique libérant de l'ammoniaque par oxydation periodique. VAN SLYKE et ses collaborateurs [*40*, *41*] ont pu ainsi préciser la constitution de cet amino-acide et établir une méthode de dosage qui a permis de déterminer pour la première fois ce composé dans les hydrolysats protéiques.

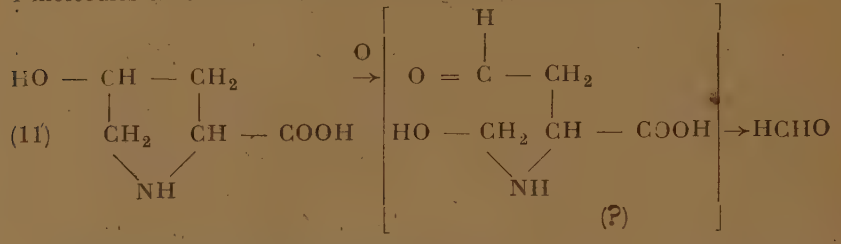
L'acide β-hydroxyglutamique, isolé récemment dans les produits d'hydrolyse de la caséine, est également oxydable [MARTIN et SYNGE, *32*; NICOLET et SHINN, *34*] :

(10) $$COOH - CH(NH_2) - CHOH - CH_2 - COOH + O = COOH - CH_2 - CHO + NH_3 + CHO - COOH$$

Enfin, dans une récente publication, CARTER et ses collaborateurs [*8*] ont montré que la formule de la sphingosine donnée par KLENK en 1931 était inexacte : Par l'oxydation periodique de ce composé et de plusieurs de ses dérivés, ces auteurs ont pu établir que la sphingosine était constituée par une chaîne en C_{18} portant à une extrémité les trois groupes fonctionnels adjacents :

$$CH_3 - (CH_2)^{14} - \underset{\displaystyle OH}{CH} - \underset{\displaystyle NH_2}{CH} - \underset{\displaystyle OH}{CH_2}.$$

D'autre part, CARTER et NEVILLE [*9*] signalent que l'hydroxyproline est lentement oxydée par l'acide periodique dont elle réduit 4 molécules en 24 heures :



Cette réaction, dont le mécanisme n'est pas bien élucidé, est génératrice de formaldéhyde (1).

L'oxydation periodique des acides hydroxyaminés présente donc une similitude étroite avec la scission glycolique de MALAPRADE.

Les amino-acides qui ne possèdent pas de fonction alcoolique ont un tout autre comportement : les composés sulfurés, qui ne libèrent ni aldéhyde ni ammoniaque, réagissent vraisemblablement selon un processus très différent.

Quant aux autres acides aminés naturels, ils ne sont pratiquement pas attaqués à la température du laboratoire [NICOLET et SHINN, *34* ; VAN SLYKE, *41*].

Alors qu'elle semble avoir été suffisamment précisée en ce qui concerne les composés non azotés [J. COURTOIS, *13*], l'influence de la réaction du milieu sur la vitesse de l'oxydation periodique n'a pas été approfondie en ce qui concerne les composés azotés.

VAN SLYKE [*41*] signale cependant que la vitesse de l'oxydation de l'hydroxylysine est très nettement influencée par ce facteur :

En milieu alcalin, la réaction typique, dans laquelle le groupe — $CH(NH_2)$ — CH(OH) — est rompu, s'effectue instantanément ; la consommation ultérieure d'un second atome d'ogygène se fait très lentement, la vitesse décroissant avec l'alcalinité du milieu.

Par contre, en solution acide, la réaction initiale est extrêmement retardée.

L'auteur donne la composition de ces milieux, mais ne précise aucun pH, et n'indique pas si la vitesse de la réaction en fonction du pH présente un optimum. C'est pourquoi nous avons jugé bon d'étudier ces faits d'une façon plus détaillée.

(1) Tout récemment, CARTER H. E. et LOO Y. H. [*J. Biol. Chem.*, 1948, 174, 723] ont signalé que cette oxydation n'est importante que dans le cas où le periodate se trouve en grand excès par rapport au corps à oxyder. La présence d'hydroxy-*l*-proline ne parait pas perturber le dosage de la sérine dans les conditions expérimentales habituelles.

CHAPITRE II

TECHNIQUES ANALYTIQUES UTILISEES

Pour tous les composés que nous avons successivement étudiés, nous avons déterminé chaque fois :

1) l'acide periodique réduit
2) les aldéhydes formés
3) l'ammoniaque libérée

Sauf quelques variantes, sur lesquelles nous reviendrons, nous avons utilisé pour ces titrages les mêmes techniques générales que nous décrirons ici, nous réservant de préciser dans les chapitres ultérieurs les méthodes particulières que nous avons dû employer.

1° — DETERMINATION DE L'ACIDE PERIODIQUE REDUIT

Solution oxydante. — Nous avons utilisé le métaperiodate de sodium $IO_6H_2Na_3$ — P. M. : 294 — qui peut être préparé par oxydation, à chaud, de l'iodure de sodium par l'hypobromite. [LANGE et PARIS, *28*].

La solution, environ décinormale (0,05 M), que nous avons le plus souvent employée, est obtenue en dissolvant 15 grammes de métaperiodate de sodium dans 150 cm_3 d'acide sulfurique N/1. Quand la dissolution est achevée, le volume est complété à 1000 cm_3.

Nous avons dans certains cas utilisé des solutions d'un titre différent, qui ont été préparées de façon analogue.

a) — Dosage par l'anhydride arsénieux

Nous avons, dans la plupart des cas, employé cette méthode, due à P. FLEURY et LANGE [*24*] :

Principe. — L'acide periodique, en milieu *bicarbonaté* (pH 7,0 à 8,0) est réduit par l'anhydride arsénieux en acide iodique :

(12) $2\ IO_4H + As_2O_3 = 2\ IO_3H + As_2O_5$

— Cette réduction est considérablement accélérée en présence d'iodure de potassium. —

Donc, en introduisant, après l'oxydation, une quantité connue et en excès d'anhydride arsénieux bicarbonaté, il est possible, en dosant l'anhydride arsénieux qui n'a pas réagi, de déterminer, par différence, la quantité d'acide periodique non réduit.

Technique. — Chacune de nos expériences a été conduite parallèlement à un essai-témoin, dans lequel est substitué à la solution du corps à oxyder un égal volume d'eau distillée.

Par exemple, pour le mélange réactionnel :

R { solution M/10 d'amine ..... 5 cm³
  { solution N/10 de periodate de sodium. 15 cm³,

nous préparons le mélange témoin :

T { eau distillée ..... 5 cm³
  { solution N/10 de periodate de sodium. 15 cm³.

Après une durée de contact déterminée, nous ajoutons à chacun des mélanges, dans l'ordre :

Solution saturée de bicarbonate de potassium ..... 10 cm³
Solution environ N/10 d'anhydride arsénieux ..... 20 cm³
Solution à 20 p. 100 d'iodure de potassium ..... 2 cm³

Après 15 minutes environ, l'excès d'anhydride arsénieux est titré dans les deux mélanges au moyen d'une solution d'iode N/10 exactement ajustée.

L'utilisation de l'empois d'amidon est inutile.

Calcul des résultats. — Soient N^r et N^t les volumes de solution d'iode consommés respectivement par le mélange réactionnel et par le mélange témoin. La différence $N^r - N^t$ représente le volume, exprimé en cm³, de solution N/10 d'acide periodique réduit dans la prise d'essai.

La solution décinormale étant M/20, la proportion de solution décimoléculaire est donc : $\frac{N^r - N^t}{2}$ cm³.

b) — Dosage en milieu acide

Le fait que la technique de P. FLEURY et LANGE implique une neutralisation préalable ne nous a pas permis de l'employer dans tous les cas :

En effet, l'attaque des dérivés aminés est très influencée par le pH du milieu ; or, au cours de l'étude de leur oxydation en milieu acide, il est souvent indispensable de pouvoir doser l'acide periodique sans modifier le pH. Nous avons alors eu recours à une technique particulière, qui permet d'effectuer la détermination en milieu acide.

Il suffit, la réaction terminée, d'ajouter de l'iodure de potassium pour réduire, avec libération d'iode, l'excès d'acide periodique et l'acide iodique qui s'est formé ; ces deux réactions peuvent être représentées par les équations suivantes :

(13) $$IO_4H + 7\ IH = 8\ I + 4\ H_2O$$

(14) $$IO_3H + 5\ IH = 6\ I + 3\ H_2O$$

Nous ajoutons de l'acide sulfurique, qui libère l'acide iodhydrique de l'iodure ; d'autre part, un grand excès d'iodure permet une dissolution totale de l'iode libéré, et par ailleurs, accélère la libération d'iode, par action de masse ; nous avons généralement utilisé : 2 cm^3 de solution d'acide sulfurique à 20 p. 100 en volume (environ 8 N) et 5 cm^3 de solution d'iodure de potassium à 20 p. 100.

L'iode libéré est titré au moyen d'une solution décinormale d'hyposulfite.

Le mode de calcul est identique, deux atomes d'iode correspondant à un atome d'oxygène ; les résultats sont exprimés, comme précédemment, en atomes d'oxygène consommé (c'est-à-dire en molécules d'acide periodique réduit) par molécule du composé soumis à l'oxydation.

NOTE. — Ce mode de dosage, où interviennent dans la différence $N^r - N^t$, deux valeurs élevées, manque de précision.

Nous n'y avons eu recours que dans les cas où la technique à l'anhydride arsénieux ne pouvait être appliquée.

2° — DETERMINATION DES ALDEHYDES FORMES

a) — Dosage mercurimétrique

Nous avons utilisé, assez rarement, la technique classique mise au point par BOUGAULT et GROS [*5*], basée sur l'action oxydante de l'iodomercurate alcalin (réactif de Nessler) :

Nous avons utilisé une solution mercurielle concentrée (1) et une lessive de soude à 30 p. 100 en poids.

Le réactif est ajouté en grand excès. Après contact convenable, le précipité formé est dissous dans l'iode dont l'excès est déterminé par l'hyposulfite.

Cette dissolution, qui doit être intégrale, constitue la phase délicate du dosage : pour l'accélérer, nous faisons en sorte que l'iode agisse en solution aussi concentrée que possible ; pour cela, nous séparons préalablement le précipité de la liqueur alcaline, soit par filtration sur verre fritté, soit, plus simplement, par centrifugation.

b) — Dosage cyanimétrique

Principe. — L'acide cyanhydrique, en milieu bicarbonaté, s'unit aux aldéhydes pour donner un nitrile-alcool :

(15) $$R-CHO + HCN \rightleftarrows R-CHOH-CN$$

La réaction est quantitative dans le cas du formaldéhyde, et se prête à son dosage après détermination, en milieu bicarbonaté, de l'acide periodique réduit : Il suffit de titrer par l'iode l'excès de cyanure.

Toutefois, par suite de la facile dissociation des cyanhydrines, le virage doit être pris à la première teinte jaune persistante. (Cette dissociation est d'ailleurs retardée par refroidissement convenable)

(1) Solution mercurielle concentrée :

bichlorure de mercure	13,55 g
iodure de potassium	36 g
eau distillée : Q. S. p.	500 cm3

Technique. — Nous avons utilisé une solution environ M/20 de cyanure de potassium, correspondant à peu près à la solution décinormale d'iode.

Après avoir déterminé l'acide periodique réduit au moyen de l'anhydride arsénieux, nous ajoutons à la prise d'essai et au mélange témoin :

Solution environ N/10 de cyanure de potassium ..... 15 cm³
Solution saturée de bicarbonate de potassium ..... 10 cm³

Après un contact d'une dizaine d'heures en flacons soigneusement bouchés, puis un court séjour à la glacière, l'excès de cyanure est titré par l'iode.

Calcul des résultats. — Aussi bien pour le dosage mercurimétrique que pour le tirage cyanimétrique, le calcul, comme pour l'acide periodique réduit, se ramène finalement à exprimer en oxygène le volume de solution d'iode N/10 utilisé : une molécule d'aldéhyde correspondant à deux atomes d'iode, le nombre de centimètres cubes de solution M/10 d'aldéhyde contenu dans la prise d'essai est donné par la formule :

$$\frac{N^t - N^r}{2}$$

Les résultats, comme pour l'oxygène consommé, sont rapportés à une molécule du composé oxydé.

Remarques.

1) Quand le mélange présente un volume important, le virage manque de netteté.

Dans ce cas, l'empois d'amidon (qui gênerait la réduction de l'iode) étant inutilisable, nous remplaçons la solution de bicarbonate par du bicarbonate solide, et la solution M/20 de cyanure par une solution M/10 ou M/5.

2) Cette technique, très simple et précise, — et ne nécessitant finalement comme solution exactement titrée que celle de l'iode, comme pour la détermination de l'acide periodique réduit, — présente cependant, dans certains cas, l'inconvénient d'exiger un milieu bicarbonaté.

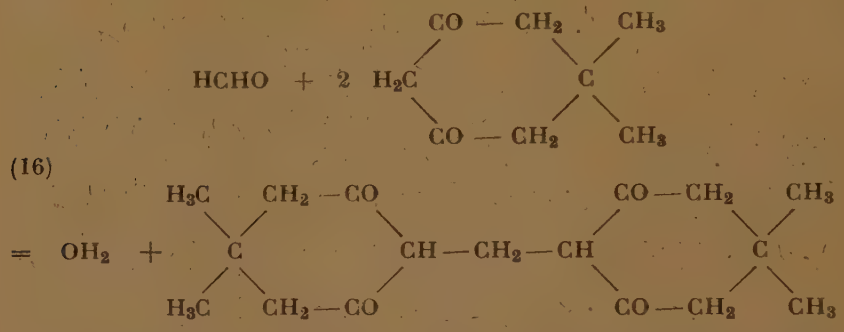
Nous avons été amenés à l'adapter au titrage du formaldéhyde après dosage en milieu acide de l'acide periodique réduit : Nous avons observé qu'il convenait, dans ce cas, de titrer l'iode libéré, non point par l'hyposulfite (1) mais par l'anhydride arsénieux bicarbonaté, après alcalinisation. La réaction du milieu est ensuite propice au dosage cyanimétrique.

(1) Nous avons constaté, lors de l'emploi de l'hyposulfite, un net déficit, que nous attribuons à une réaction annexe, vraisemblablement comparable à la combinaison bisulfitique, dans laquelle une partie de l'aldéhyde serait engagée.

Identification des aldéhydes

Nous avons caractérisé les aldéhydes à l'état de combinaison dimédonique.

Le dimédon, ou méthone (5 —5 diméthyldihydrorésorcine) présente en effet la propriété de former avec les corps à fonction aldéhyde, et en particulier avec le formaldéhyde, des produits de condensation ayant un point de fusion défini :



(16)

Le diméd n, utilisé en solution aqueuse saturée (environ 1 pour 200) préparée extemporanément, est ajouté en grand excès, correspondant à vingt fois le poids d'aldéhyde escompté.

Le composé, isolé et desséché jusqu'à poids constant dans l'étuve à 60°, est caractérisé par son point de fusion (188-189° dans le cas de la méthylènediméthone).

LANGE [27], après avoir vérifié que cette détermination était possible après oxydation periodique, en milieu bicarbonaté et en présence d'acide iodique, avait constaté que les résultats obtenus étaient toujours inférieurs de 10 à 15 pour 100 au résultat théorique.

Quant à nous, nous ne l'avons guère utilisée au point de vue quantitatif, bien qu'il nous soit apparu que dans certaines conditions, et spécialement à la faveur d'un milieu convenable, le rendement en méthylènediméthone pouvait être sensiblement théorique.

NOTE. — P. FLEURY, J. COURTOIS et A. WICKSTROM (recherches inédites) ont mis au point une technique permettant le dosage exact du formaldéhyde par le dimédon ; la précipitation doit être effectuée vers pH 4,6.

3° — DETERMINATION DE L'AMMONIAQUE FORMEE

Nous avons dosé l'ammoniaque par acidimétrie, après entraînement par la vapeur d'eau.

Nous utilisons l'appareil classique de Pregl, une solution d'acide sulfurique N/10, N/25 ou N/50, suivant le cas, et l'indicateur R.-B. (rouge de méthyle - bleu de méthylène), qui est extrêmement sensible et d'un maniement facile, du fait de sa réversibilité. (1)

Après action de l'oxydant, l'acide periodique qui n'a pas réagi est réduit par un excès d'anhydride arsénieux : puis une partie aliquote de la liqueur est introduite dans le ballon ovoïde de l'appareil. Le dosage est ensuite poursuivi selon le protocole classique.

Nous avons pu formuler quelques remarques concernant cette méthode :

a) Le titrage est plus rapide et plus précis si la prise d'essai est réduite, et maintenue telle, au cours de l'entraînement, par chauffage du ballon ovoïde.

b) Il est utile d'acidifier — par l'acide sulfurique, en présence d'hélianthine — l'eau du générateur de vapeur d'eau, afin d'y bloquer l'ammoniaque éventuelle.

c) Le distillat doit être reçu dans *quelques* centimètres cubes d'eau ; cette eau, rapidement ajustée à pH 5,5 (zone sensible de l'indicateur), est contenue dans une capsule de porcelaine, dans laquelle la teinte neutre, gris indécis, apparaît beaucoup plus nettement que dans un récipient de verre.

d) Il suffit alors, pour se prémunir contre une possible impureté ammoniacale, de vérifier que la soude employée ne trouble pas le réactif de Nessler.

Ces quelques précautions rendent inutiles les titrages préliminaires témoins, et permettent d'obtenir une bonne précision.

(1) L'appareil et la technique du dosage, ainsi que la préparation et le mode d'emploi du colorant, sont décrits dans les *Fiches techniques de Chimie biologique* du Pr. P. FLEURY [*19*].

CHAPITRE III

SEPARATION DES TROIS ETHANOLAMINES

A PARTIR DE LEUR MELANGE COMMERCIAL

Nous décrirons ici la technique qui nous a permis de séparer et purifier les éthanolamines à partir de leur mélange commercial. (1)

Nous avons utilisé l'« éthanolamine technique » RHONE-POULENC ; ce produit est constitué par une solution impure de mono-, de di-, et de triéthanolamine.

Principe . — La saturation, par l'acide chlorhydrique, de l'éthanolamine technique en milieu concentré, permet de précipiter exclusivement le chlorhydrate de triéthanolamine, tandis que les chlorydrates des deux autres composés restent en solution.

En agitant le précipité obtenu avec de l'alcool isoamylique et un léger excès de soude, la triéthanolamine passe en solution ; il est alors possible, par distillation sous pression réduite, d'obtenir la base à l'état pur.

Les eaux-mères contiennent les chlorhydrates de mono- et de diéthanolamine ; en présence de carbonate de baryum et d'alcool éthylique, les deux amino-alcools sont déplacés et dissous dans l'alcool.

La mono- et la diéthanolamine sont ensuite séparées par distillation fractionnée sous pression réduite.

(1) Cette technique a été mise au point grâce aux conseils de Mr. E. CATTELAIN.

Technique. — 60 grammes de produit commercial sont saturés par une solution d'acide chlorhydrique au demi en présence d'hélianthine.

Il se forme un précipité immédiat, que nous recueillons après quelques minutes sur un filtre de Buechner.

Le colorant est éliminé par lavage, au moyen de quelques centimètres cubes d'alcool à 95° ; le chlorhydrate de triéthanolamine est essoré, puis desséché à l'étuve à 37° pendant 48 heures.

Nous ajoutons alors 200 cms d'alcool isopropylique et 12 grammes de soude pure, pulvérisée.

Le mélange est agité vigoureusement, puis soumis à l'ébullition sous réfrigérant à reflux pendant 3 heures. Le chlorure de sodium formé est séparé par filtration ; le filtrat, après élimination de l'alcool par évaporation sur le bain-marie, est distillé sous vide : Sous une pression de 22 mm. de mercure, la triéthanolamine passe à 210°. — Rendement : 55 p. 100 du mélange initial.

Les eaux-mères sont additionnées d'un excès de carbonate de baryum et d'alcool éthylique à 95°; puis le mélange est soumis à l'ébullition sous réfrigérant ascendant pendant une heure. Après décantation et filtration, l'alcool est éliminé par chauffage au bain-marie, et le liquide résiduel est soumis à la distillation fractionnée : sous une pression de 30 mm. de mercure, une petite quantité de monoéthanolamine distille vers 140° (1) ; la diéthanolamine passe vers 250°. — Rendement : 18 p. 100 du mélange primitif.

Essai de pureté — Nous avons vérifié la pureté des trois amines par titrage alcalimétrique (indicateur : rouge de méthyle - bleu de méthylène).

(1) Le rendement en monoéthanolamine est très faible (1 p. 100 environ). Nous avons employé, pour la plupart des expériences concernant ce composé, un produit KUHLMAN, dont nous avons vérifié la pureté de façon identique.

DEUXIÈME PARTIE

ETUDE DE L'OXYDATION PERIODIQUE DE DIFFERENTS COMPOSES AMINES

Nous avons d'abord étudié le comportement de deux amines primaires possédant un oxhydrile sur le carbone situé au voisinage de la fonction aminée ; nous nous sommes adressé à deux amino-alcools α : la *monoéthanolamine*, ou colamine, déjà étudiée par P. FLEURY et GUITARD [*23*], sur laquelle nous avons fait quelques essais complémentaires, et le *méthylaminopropanol.*

Nous avons utilisé ensuite un acide aminé à fonction alcool, la *sérine*, dont l'oxydation periodique a déjà été étudiée par divers auteurs ; nous avons seulement précisé quelques points qui n'avaient pas encore retenu l'attention.

La sérine constitue la transition entre les amino-alcools α et les acides α-aminés : nous avons étudié deux représentants de cette série, le *glycocolle* et l'*alanine.*

Nous n'avons envisagé qu'une seule amine secondaire, la *diéthanolamine*, dont NICOLET et SHINN [*34*] ont brièvement décrit le comportement.

Puis nous avons soumis à l'oxydation periodique deux amines tertiaires : la *triéthanolamine* et la *méthyldiéthanolamine.*

Enfin, nous avons complété cette étude par une α-diamine; nous avons choisi le représentant le plus simple de ce groupe, l'*éthylènediamine.* C'est le seul composé non oxygéné étudié au cours de ce travail.

CHAPITRE I

AMINES PRIMAIRES

a) — *AMINO-ALCOOLS*

1° — ACTION DE L'ACIDE PERIODIQUE SUR LA MONOETHANOLAMINE

P. FLEURY et GUITARD [*23*] ont montré que la monoéthanolamine, ou colamine, était oxydée par l'acide periodique suivant l'équation :

$$\begin{array}{l} CH_2 - CH_2OH + O = NH_3 + 2\ HCHO \\ | \\ NH_2 \end{array} \qquad (17)$$

Cette attaque est assez rapide (5 minutes environ à la température du laboratoire).

Cependant, le rendement en ammoniaque et en aldéhyde n'est pas intégral en toutes circonstances, et une molécule de colamine, en fait, consomme plus d'un atome d'oxygène, ce qui permet de supposer que la réaction est plus complexe que le schéma semble l'indiquer.

Nous avons utilisé la monoéthanolamine KUHLMAN en solution aqueuse M/10.

Nos premiers essais ont été effectués avec le mélange suivant :

Solution M/10 de monoéthanolamine	5 cm³
Solution N/10 de periodate de sodium	15 cm³
Solution saturée de bicarbonate de potassium ...	10 cm³

NOTE. — Ce milieu, qui est tamponné vers pH 8,0 par le bicarbonate, permet, sans alcalinisation préalable, le dosage de l'acide periodique réduit par l'anhydride arsénieux.

Après 15 minutes de contact à la température du laboratoire, l'acide periodique réduit et les aldéhydes libérés sont titrés, parallèlement à un essai-témoin, suivant les techniques décrites dans la première partie de cet exposé ; l'ammoniaque est dosée, dans un mélange similaire, suivant la méthode classique.

Les résultats obtenus sont réunis dans le tableau I :

TABLEAU I

Oxydation periodique de la monoéthanolamine

pH : 8,0 environ — durée de contact : 15 minutes — température : 20°	
molécules d'acide periodique réduit	1,07
molécules de formaldéhyde libéré (1)	1,87
molécules d'ammoniaque formée	0,66
Les résultats sont rapportés à une molécule de colamine	

(1) Cette détermination a été effectuée par la méthode cyanimétrique, exposée antérieurement.

Sauf quelques rares exceptions, que nous préciserons, nous avons toujours, au cours de ce travail, employé cette technique.

Détermination de l'anhydride carbonique dégagé

Au cours de notre travail, nous avons été amené, pour résoudre un problème analytique (troisième partie de notre exposé), à déterminer l'anhydride carbonique dégagé dans l'oxydation periodique de la colamine.

Cette détermination nous a permis de constater que cette libération n'est pas négligeable.

Nous avons utilisé un appareil à absorption dans le vide (2) ainsi constitué :

Deux ballons de 100 cm^3 s'ajustent, par des rodages normalisés, à l'appareil qui est fermé par deux robinets étanches, l'un surmonté verticalement d'un entonnoir, l'autre, latéral, permettant de faire le vide à l'intérieur. (Voir figure 1)

(2) Cet appareil, conçu par le Pr. FLEURY et G. POIROT, a déjà été utilisé au Laboratoire de Chimie Biologique de la Faculté de Pharmacie de Paris par Mme Y. FIEVET [*18*] et par J. LAINEY. [*23*]

Technique. — 2 cm³ de solution M/10 de colamine sont mesurés dans le ballon inférieur, le ballon latéral contenant 10 cm³ de solution décinormale de soude.

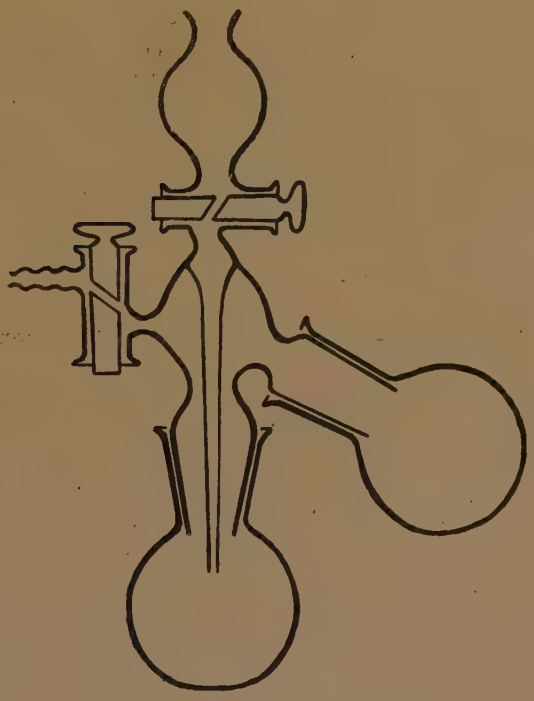


Figure 1

Le vide étant fait dans l'appareil, nous versons dans l'entonnoir un excès (10 cm³ environ) d'acide periodique, dont les 3/4 sont introduits, par le jeu du robinet, dans le ballon renfermant la colamine.

Dans un appareil identique, la même opération est effectuée avec 2 cm³ d'eau distillée, le ballon latéral contenant 10 cm³ de la même solution de soude. — Cette expérience-témoin est indispensable si la liqueur alcaline n'est pas rigoureusement ajustée et décarbonatée. —

Après une durée de contact convenable, l'excès de soude est titré par la méthode de WINCKLER, suivant le procédé de POETHKE [*36*] :

Le contenu du ballon latéral est versé, lentement et en agitant, dans un Erlenmeyer renfermant 15 cm^3 de solution de chlorure de baryum à 20 p. 100, le ballon étant ensuite soigneusement rincé, et les eaux de lavage ajoutées au mélange.

L'ion carbonique fixé par la soude est précipité sous forme de carbonate de baryum, qui, en présence de l'excès de chlorure de baryum, est neutre à la phénolphtaléine ; l'alcalinité titrable est diminuée proportionnellement à la quantité de gaz carbonique fixé.

Il suffit donc, sans filtrer, de titrer l'excès d'alcali par une solution décinormale d'acide sulfurique, en présence de phtaléine du phénol : la différence entre le chiffre obtenu dans l'essai et celui obtenu dans l'expérience-témoin permet de déterminer la quantité d'anhydride carbonique absorbé.

Dans ces conditions, après 48 heures d'oxydation à la température du laboratoire, une molécule de colamine libère environ 0,17 molécules d'anhydride carbonique.

Ces expériences confirment qu'une oxydation secondaire se superpose à la réaction (17) ; il semble alors possible d'attribuer à cette oxydation annexe le fait qu'une molécule de monoéthanolamine consomme plus d'un atome d'oxygène.

Influence de la réaction du milieu sur la vitesse de l'oxydation periodique

Diverses recherches [J. COURTOIS et P. FLEURY, *14* ; LINDSTEDT, *29*] ont mis en évidence l'influence de la réaction du milieu sur la vitesse de l'oxydation periodique des composés non azotés. Ainsi, les polyols, de même que les composés ne possédant pas deux hydroxyles contigus, sont plus rapidement attaqués en milieu acide. Pour les diacides, l'optimum de la vitesse d'oxydation semble se situer vers pH 4,0 [P. FLEURY et J. COURTOIS, *22*].

L'importance de ce facteur ne semble pas avoir été suffisamment remarquée en ce qui concerne les dérivés aminés. Aussi avons-nous fait une étude cinétique, en fonction du pH, de chacun des composés que nous avons successivement soumis à l'oxydation periodique.

Afin d'observer l'influence de la réaction du milieu sur l'oxydation de la colamine, nous avons soumis à l'action de l'acide periodique des prises d'essais tamponnées à des pH différents.

La prise d'essai

Solution M/10 de monoéthanolamine	.....	5 cm³
Solution N/10 de periodate de sodium	.....	15 cm³

est tamponnée par des mélanges convenables, constitués par les solutions suivantes :

pH 3,0 à 4,0	solution M/5 de chlorure de potassium solution N/5 d'acide chlorhydrique
pH 4,0 à 6,0	solution M/1 d'acétate de sodium solution N/1 d'acide acétique
pH 6,0 à 8,0	solution M/5 de phosphate monopotassique solution N/5 de soude
pH 8,0 à 10,0	solution M/5 de chlorure de potassium solution N/5 d'acide borique

Le pH de chaque prise d'essai est mesuré sur des mélanges similaires, soit par colorimétrie, soit, dans les zones extrêmes, par la méthode potentiométrique.

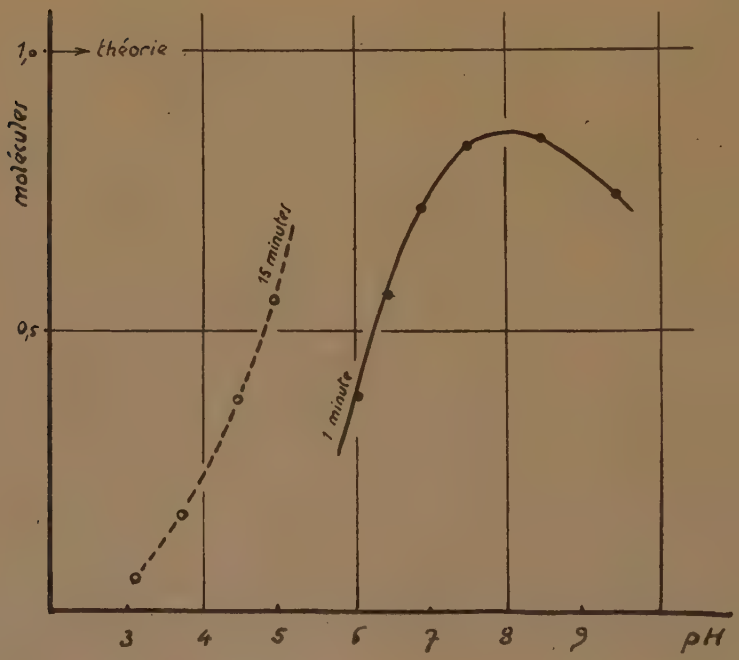
Pour freiner autant que possible l'oxydation, et par suite, rendre plus facilement appréciable le pH optimum, nous avons opéré à la température de la glace fondante. Après une minute de contact, l'oxydation est arrêtée par l'addition du mélange acide sulfurique-iodure de potassium, selon la technique exposée dans la première partie de notre exposé ; finalement, l'acide periodique réduit dans chacun des mélanges est déterminé, parallèlement à un témoin, par le dosage de l'iode libéré.

La représentation graphique des résultats obtenus nous a permis d'établir la courbe I :

COURBE I

Oxydation periodique de la colamine en fonction du pH.

(température : 4°)



en abscisses : pH du milieu
en ordonnées : molécules d'acide periodique réduit par une molécule de colamine

Nous pouvons constater que la vitesse de l'oxydation periodique de la monoéthanolamine présente un net optimum vers pH 8,0 ; à ce pH, une molécule de colamine, à la température de 4°, réduit, en une minute, 0,86 molécules d'acide periodique.

Conclusions

Nous avons pu vérifier que la monoéthanolamine était dans l'ensemble oxydée suivant la réaction établie par P. FLEURY et GUITARD :

$$\begin{array}{l} CH_2 - CH_2OH \\ | \\ NH_2 \end{array} + O = NH_3 + 2\,HCHO \qquad (17)$$

Toutefois, il semble s'y associer une réaction secondaire génératrice d'anhydride carbonique.

La vitesse de l'oxydation est nettement influencée par la réaction du milieu, son pH optimum se situant vers pH 8,0.

2° — ACTION DE L'ACIDE PERIODIQUE SUR L'AMINOMETHYLPROPANOL

Le schéma théorique de l'oxydation periodique de l'aminométhylpropanol paraît devoir être le suivant :

$$(18) \quad H_2N - \overset{\displaystyle CH_3}{\underset{\displaystyle CH_3}{\overset{|}{\underset{|}{C}}}} - CH_2OH + O = NH_3 + CH_3 - CO - CH_3 + HCHO$$

D'après cette équation, une molécule du composé, après consommation d'un atome d'oxygène, donnerait naissance à une molécule d'ammoniaque, une molécule d'acétone, et une molécule de formaldéhyde.

Nous avons utilisé un produit LIGHT, en solution aqueuse M/10 ; un contrôle de pureté a été effectué par titrage alcalimétrique, en présence de colorant rouge de méthyle-bleu de méthylène.

Nos premières expériences, conduites suivant les techniques antérieurement décrites, avec le mélange :

Solution M/10 d'aminométhypropanol	3 cm³
Solution N/10 de periodate de sodium	10 cm³
Solution saturée de bicarbonate de potassium	5 cm³

confirment en partie l'équation (18) — le cas, plus particulier, de l'acétone étant envisagé ultérieurement.

Le bilan obtenu est en effet le suivant (Tableau II) :

TABLEAU II

Oxydation periodique de l'aminométhylpropanol

pH : 7,8 — durée de contact : 1 minute — température : 22°	
molécules d'acide periodique réduit	0,96
molécules d'aldéhydes libérés (1)	0,98
molécules d'ammoniaque formée	0,94
les résultats sont rapportés à une molécule d'aminométhylpropanol	

(1) Les aldéhydes ont été dosés par cyanimétrie : nous avons vérifié que le titrage n'était pas perturbé, dans nos conditions opératoires, par la présence d'acétone.

D'autre part, nous avons vérifié qu'après oxydation prolongée, ces résultats n'étaient pas modifiés de façon sensible :

En une heure, dans les mêmes conditions, une molécule d'aminométhylpropanol réduit 1,0 molécule d'acide periodique, ce qui permet d'affirmer que le terme de la réaction, à pH 7,8, est atteint après quelques minutes d'oxydation à la température du laboratoire.

Identification de l'aldéhyde formique

Après une oxydation periodique d'une heure (expérience ci-dessus), le mélange, après détermination de l'acide periodique réduit, est additionné de 200 cm^3 de solution saturée de dimédon.

Il se forme un précipité que nous recueillons, lavons et desséchons suivant la technique classique : le point de fusion de la combinaison est 188°, et son poids correspond à 0,84 molécules de formaldéhyde par molécule d'aminométhylpropanol, ce qui confirme, compte tenu du déficit escompté (15 p. 100 environ), que l'aldéhyde libéré au cours de la réaction est le seul formaldéhyde.

Identification de l'acétone

Nous avons caractérisé l'acétone sur un distillat obtenu après une oxydation periodique effectuée comme précédemment.

a) — Ce distillat, traité par l'iode en présence de soude, donne naissance à un précipité d'iodoforme.

b) — La réaction de FROMMER est positive : le distillat est additionné de quelques gouttes d'une solution alcoolique saturée d'aldéhyde salicylique, puis d'une pastille de potasse ; le chauffage, vers 60°, provoque alors, au-dessus de la zone alcaline, la formation d'un anneau rouge caractéristique.

Nous avons enfin identifié l'acétone par formation de la p. nitrophénylhydrazone.

Nous avons dû utiliser un protocole opératoire particulier pour séparer l'acétone de l'aldéhyde formique :

Nous avons tenu compte des travaux d'AWAD [*1*] et de COUSIN [*15*]. Dans un mélange d'acétone et de formaldéhyde, le réactif de Nessler réagit avec ces deux composés ; cependant, alors que le formaldéhyde réduit le réactif avec précipitation de mercure métallique, l'acétone est simplement insolubilisée à l'état de combinaison mercurielle décomposable par les acides étendus.

La prise d'essai, après oxydation periodique, est additionnée d'un excès de réactif de Nessler. Après une heure de contact, le complexe obtenu, collecté par centrifugation, est décomposé par 5 cm³ d'une solution au demi en volume d'acide chlorhydrique ; une nouvelle centrifugation permet d'obtenir un liquide qui n'est plus constitué que par une solution chlorhydrique d'acétone : la liqueur est distillée et l'acétone est reçue dans une solution acétique de p. nitrophénylhydrazine (1). Il se forme immédiatement un précipité, qui est lavé à l'eau distillée, essoré, et desséché à l'étuve à 37°.

Son point de fusion, 149°, est celui de l'hydrazone de l'acétone. Nous avons vérifié que la combinaison obtenue dans les mêmes conditions à partir de l'acétone pure présentait le même point de fusion, et qu'il en était de même pour le mélange des deux hydrazones.

(1) Solution de p. nitrophénylhydrazine :

p. nitrophénylhydrazine	0,5 g
acide acétique cristallisable	0,5 g
solution M/1 d'acétate de sodium	3 cm³
eau distillée	25 cm³

Détermination de l'acétone libérée.

Nous avons déterminé l'acétone par la méthode mise au point par AWAD [*1*] et exposée au paragraphe précédent.

Cette technique permet de doser d'une part le formaldéhyde en déterminant le mercure résiduel, et d'autre part l'acétone, dans le filtrat acide, par iodométrie.

Technique. — Nous avons opéré sur la prise d'essai précédemment utilisée :

Solution M/10 d'aminométhylpropanol	3 cm³
Solution N/10 de periodate de sodium	10 cm³
Solution saturée de bicarbonate de potassium	5 cm³

Après une oxydation de 5 minutes à la température du laboratoire, en flacon bouché, nous ajoutons un excès de réactif de Nessler :

Solution mercurielle concentrée (1)	20 cm³
Lessive de soude à 30 p. 100 en poids	30 cm³

Après une heure de contact, le mélange est centrifugé, la liqueur alcaline est décantée, et le culot de centrifugation est traité par 5 cm³ de la solution d'acide chlorhydrique au demi. — Il est alors indispensable, pour bien dissoudre le complexe acétonique, d'ajouter quelques centimètres cubes d'une solution à 20 p. 100 d'iodure de potassium [COUSIN, *15*].

Le mélange obtenu est délayé soigneusement dans la solution acide et jeté sur un filtre, qui retient le mercure réduit.

Ce résidu, qui correspond au formaldéhyde, est rapidement lavé, et chassé, par un jet de pissette, dans un Erlenmeyer, où nous déterminons le mercure par iodométrie, suivant la technique classique.

Dans le filtrat, l'acétone est transformée en iodoforme par l'iode en milieu alcalin ; il suffit ensuite de déterminer, en milieu acide, l'iode non combiné :

Nous ajoutons successivement :

5 cm³ de solution d'iodure de potassium à 20 p. 100
10 cm³ de lessive de soule à 30 p. 100 en poids
10 cm³ de solution N/10 d'iode.

(1) Solution mercurielle concentrée :

bichlorure de mercure	13,55 g
iodure de potassium	36 g
eau distillée : Q. S. p.	500 cm³

— Nous avons pu vérifier que l'action de l'hypoïodite est plus rapide quand la soude, introduite en excès, est ajoutée assez brusquement [P. FLEURY et CARBOU, *21*] —

Après 10 minutes de contact, le mélange est acidifié par l'addition de 10 cm^3 de solution d'acide chlorydrique au demi ; finalement, l'iode libéré est titré par l'hyposulfite.

Une molécule d'acétone correspondant à six atomes d'iode, le volume de solution N/10 d'iode consommée permet de déterminer la quantité d'acétone libérée dans le mélange.

Nous avons dosé sur des prises d'essai similaires l'acide periodique réduit et l'ammoniaque formée dans des conditions identiques : l'ensemble des résultats obtenus permet d'établir le tableau III :

TABLEAU III

Oxydation periodique de l'aminométhylpropanol

pH : 7,8 — durée de contact : 5 minutes — température : 20°	
molécules d'acide periodique réduit	0,96
molécules de formaldéhyde libéré (1)	0,93
molécules d'acétone formée	0,84
molécules d'ammoniaque libérée	0,98
Les résultats sont rapportés à une molécule d'aminométhylpropanol	

(1) Valeur obtenue par détermination iodométrique du précipité mercureux.

Le bilan ainsi complété est sensiblement conforme à l'équation (18).

— Le déficit qui affecte régulièrement le taux d'acétone libérée semble imputable à une volatilisation partielle, et surtout au fait que le complexe acétonique n'est pas totalement insoluble dans la liqueur alcaline et dans les eaux de lavage [COUSIN, *15*]. —

Influence de la réaction du milieu sur la vitesse de l'oxydation periodique

Les prises d'essai

Solution M/10 d'aminométhylpropanol ..... 3 cm³
Solution N/10 de periodate de sodium ..... 10 cm³,

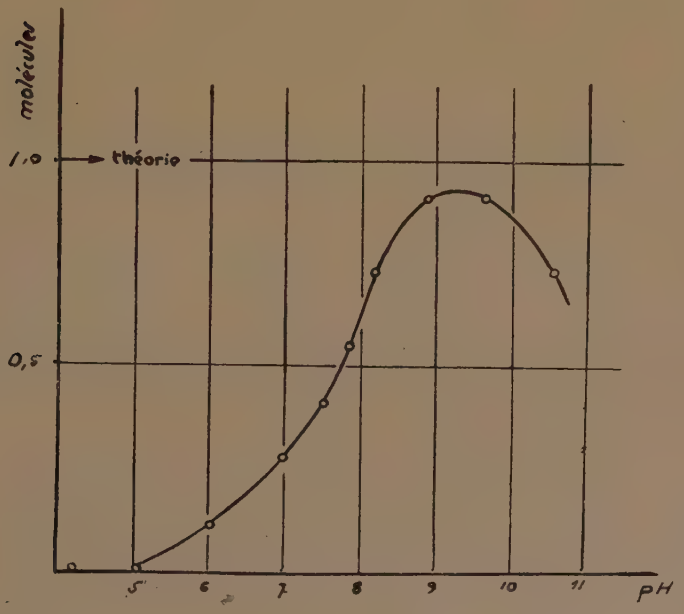
tamponnées à différents pH par des mélanges convenables, sont soumis à l'oxydation periodique pendant une minute, à la température de la glace fondante, selon la technique précédemment employée pour la colamine.

Les résultats de ces expériences figurent sur la courbe II :

COURBE II

Oxydation periodique de l'aminométhylpropanol en fonction du pH.

(1 minute à 4°)



en abscisses ; pH du milieu.
en ordonnées : molécules d'acide periodique réduit par une molécule d'aminométhylpropanol.

Nous constatons que l'oxydation, nulle à pH 5,0, est maximum en milieu alcalin ; la vitesse de la réaction présente un net optimum vers pH 9,3 ; à ce pH, en 1 minute à 4°, la quantité d'acide periodique réduit représente 93 p. 100 de la valeur théorique.

Le pH optimum se situe dans une zone plus fortement alcaline que pour les autres amines étudiées au cours de ce travail.

Conclusions

L'acide periodique oxyde rapidement l'aminométhylpropanol selon le schéma :

$$(18)\quad H_2N-\underset{\displaystyle CH_3}{\overset{\displaystyle CH^3}{\overset{|}{\underset{|}{C}}}}-CH_2OH + O = NH_3 + CH_3-CO-CH_3 + HCHO$$

Nous avons pu identifier et doser l'ammoniaque, le formaldéhyde et l'acétone qui prennent naissance dans la réaction.

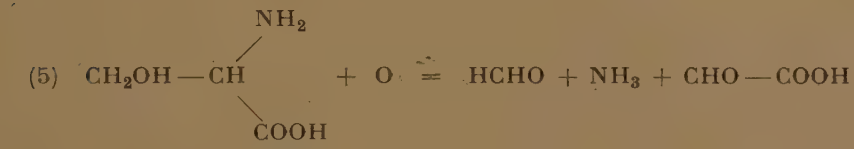
Celle-ci est terminée après quelques minutes à la température du laboratoire.

Comme pour la colamine, la vitesse de l'oxydation est nettement influencée par la réaction du milieu ; toutefois, le pH optimum (9,3) est déplacé dans la zone alcaline par rapport aux autres composés étudiés au cours de ce travail, pour lesquels la vitesse de réaction est maximum entre pH 7,6 et pH 8,0.

b) — ACIDES AMINES ALIPHATIQUES A FONCTION ALCOOL

ACTION DE L'ACIDE PERIODIQUE SUR LA SERINE

L'oxydation periodique de la sérine, observée tout d'abord par NICOLET et SHINN [*34*], a fait l'objet de diverses recherches. Elle s'effectue, en une réaction immédiate, selon l'équation :



(5) $CH_2OH-CH(NH_2)-COOH + O = HCHO + NH_3 + CHO-COOH$

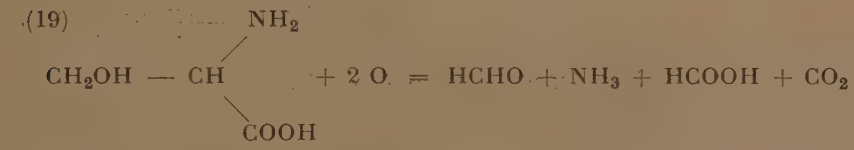
Pour la détermination de cet amino-acide, le test le plus couramment utilisé est le dosage du formaldéhyde ; il peut être réalisé :

soit par pesée de la combinaison dimédonique [P. FLEURY et LANGE, *24*],

soit, colorimétriquement, à l'aide de l'acide chromotropique [BOYD et LOGAN, *6* ; MICHEL et BOZZI, *33*] ou par la réaction de SCHRYVER — coloration rouge avec le ferricyanure et la phénylhydrazine — [DESNUELLE et NAUDET, *17*].

Il y a lieu d'envisager une réaction ultérieure, beaucoup plus lente, constituée par l'oxydation de l'acide glyoxylique initialement libéré. Ce composé, selon P. FLEURY et BON-BERNATETS [*20*], est oxydé par l'acide periodique en acide formique et anhydride carbonique.

L'oxydation de la sérine, dans ces conditions, peut être représentée par l'équation globale :



(19) $CH_2OH-CH(NH_2)-COOH + 2\,O = HCHO + NH_3 + HCOOH + CO_2$

Les auteurs cités précédemment s'étant surtout préoccupés du dosage de la sérine par détermination du formaldéhyde libéré, il nous a paru utile de compléter ces recherches en étudiant plus spécialement la seconde phase de la réaction.

Nous avons ensuite recherché si la détermination de l'anhydride carbonique libéré pouvait être utilisée pour le dosage de la sérine.

Enfin, nous avons observé l'influence de la réaction du milieu sur l'oxydation periodique de cet amino-acide.

Première phase — Oxydation periodique immédiate de la sérine.

Nous avons utilisé un échantillon de *d-l* sérine HOFFMAN-LAROCHE, en solution M/10.

Nous avons d'abord vérifié que l'oxydation immédiate du composé s'effectuait selon le schéma (5) :

Nous avons utilisé le mélange :

Solution M/10 de sérine	3 cm3
Solution N/10 de periodate de sodium	10 cm3
Solution saturée de bicarbonate de potassium	5 cm3

Après une minute de contact à la température du laboratoire, l'acide periodique réduit est titré par l'anhydride arsénieux, puis les aldéhydes par cyanimétrie.

Sur une prise d'essai similaire, nous dosons l'ammoniaque par alcalimétrie, dans l'appareil de Pregl, après avoir vérifié que la sérine seule, dans les mêmes conditions, ne libère pas de gaz alcalin.

Les résultats obtenus sont réunis dans le tableau IV :

TABLEAU IV

Oxydation periodique de la sérine en une minute

pH : 7,5 — température : 20°	
molécules d'acide periodique réduit	0,98
molécules d'aldéhydes libérés	1,93
molécules d'ammoniaque formée	0,95
les résultats sont rapportés à une molécule de sérine	

Le bilan obtenu nous permet de vérifier que l'oxydation periodique de la sérine est conforme, après 1 minute de contact, à l'équation (5).

Deuxième phase — Oxydation periodique prolongée de la sérine.

Afin de déterminer la durée de contact nécessaire à l'oxydation totale de l'acide glyoxylique

(20) $$CHO — COOH + O = HCOOH + CO_2$$

libéré dans la première phase de la réaction,nous avons réalisé une oxydation periodique de la sérine en fonctiondu temps :

Nous avons effectué ces expériences sur la prise d'essai :

Solution M/10 de sérine 2 cm3
Solution N/10 de periodate de sodium 10 cm3

REMARQUE — Le periodate étant en solution sulfurique, le mélange présente une réaction acide : le terme de la première phase de l'oxydation s'en trouve sans doute retardé ; par contre, l'acide glyoxylique est oxydé ensuite dans un milieu favorable à son attaque [BON-BERNATETS, *4*].

Plusieurs échantillons de la prise d'essai ayant été préparés, nous dosons, à intervalles réguliers, d'une part l'acide periodique réduit, puis, par cyanimétrie, les aldéhydes libérés, et, d'autre part, l'ammoniaque formée.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau V :

TABLEAU V

Oxydation periodique de la sérine en fonction de la durée de contact

pH : 2,5 environ — température : 15°					
durée de contact (en heures) :	(1/60)	4	8	24	48
molécules d'acide periodique réduit.	(1,0)	1,46	1,60	1,92	1,97
molécules d'aldéhydes libérés (1) ..	(2,0)	1,63	1,41	1,15	0,98
molécules d'ammoniaque formée ...	(1,0)	1,02	1,01	1,00	1,00
les résultats sont rapportés à une molécule de sérine					

(1) Cette détermination a été effectuée par la technique cyanimétrique, qui permet de doser ensemble le formaldéhyde et l'acide glyoxylique.

Il existe donc un net parallélisme entre la réduction d'une seconde molécule d'acide periodique et la disparition d'une des fonctions aldéhydes, ce qui correspond bien à l'oxydation de l'acide glyoxylique. (Courbe III)

De ce fait, le rapport :

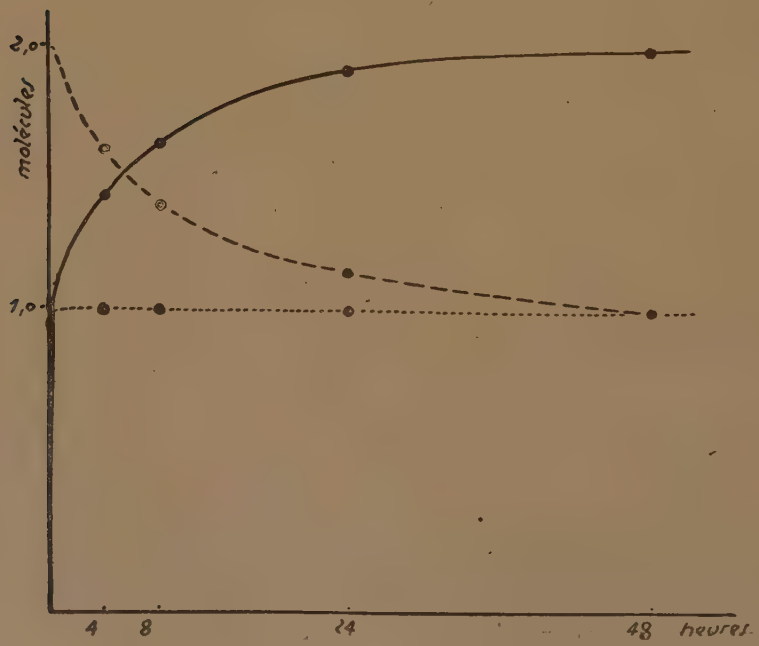
$$\frac{\text{molécules d'aldéhydes libérés}}{\text{molécules d'acide periodique réduit}}$$ passe de $\frac{2}{1}$ à $\frac{1}{2}$

Comme il était à prévoir, la quantité d'ammoniaque formée ne varie pas.

COURBE III

Oxydation periodique de la sérine en fonction de la durée de contact

(température : 15°)



en abscisses : durée de contact (en heures)

en ordonnées : ——— molécules d'acide periodique réduit
– – – – molécules d'aldéhydes libérés
. . . . . molécules d'ammoniaque formée

D'autre part, nous avons vérifié, par la détermination du point de fusion (189°) de la combinaison dimédonique obtenue après 48 heures de réaction, qu'à ce stade le formaldéhyde était le seul aldéhyde libéré par oxydation periodique de la sérine.

Détermination de l'anhydride carbonique dégagé

L'oxydation prolongée de la sérine paraissant tout à fait conforme à l'équation (19), du point de vue de l'acide periodique réduit et de l'aldéhyde libéré, il est logique de prévoir la libération concomittante d'anhydride carbonique.

Nous avons dosé ce produit :

a) — *par alcalimétrie* : nous avons utilisé l'appareil à absorption dans le vide précédemment décrit (figure 1), et employé, comme pour la colamine, la méthode de WINCKLER.

Dans les conditions où nous avons opéré (48 heures à 20°) nous avons observé, pour une molécule de sérine oxydée, un dégagement de 0,96 molécules d'anhydride carbonique.

b) — *par mesure gazométrique*, dans l'appareil de WARBURG. — Cet appareil, qui permet la détermination manométrique du gaz libéré au cours d'une micro-réaction dans un système clos maintenu à température constante, est parfaitement décrit dans la thèse de Mme FIEVET [*18*] ; aussi nous n'en ferons pas ici la description

Nous avons utilisé la sérine en solution M/200 (prise d'essai : 1 cm³) et l'acide periodique en solution N/2 (1 cm³).

La moyenne des résultats obtenus est, en 15 heures à 30°, de 1,09 molécules d'anhydride carbonique par molécule de sérine — l'erreur par excès étant vraisemblablement imputable à une réaction parasite, favorisée par le contact prolongé à 30°.

L'ensemble de ces résultats confirme que l'oxydation prolongée de la sérine s'effectue selon l'équation (20).

D'autre part, le test basé sur la détermination de l'anhydride carbonique dégagé semble pouvoir être utilisé pour le dosage de cet aminoacide.

Influence de la réaction du milieu sur la vitesse de l'oxydation periodique

VAN SLYKE et ses collaborateurs [*41*], après avoir signalé que l'attaque initiale de l'hydroxylysine, très ralentie en milieu acide, était au contraire instantanée en milieu alcalin, avaient observé que ces conclusions étaient valables également pour la sérine...

Afin de déterminer avec plus de précision l'influence de la réaction du milieu, nous avons effectué une série d'oxydations periodiques de la sérine à différents pH.

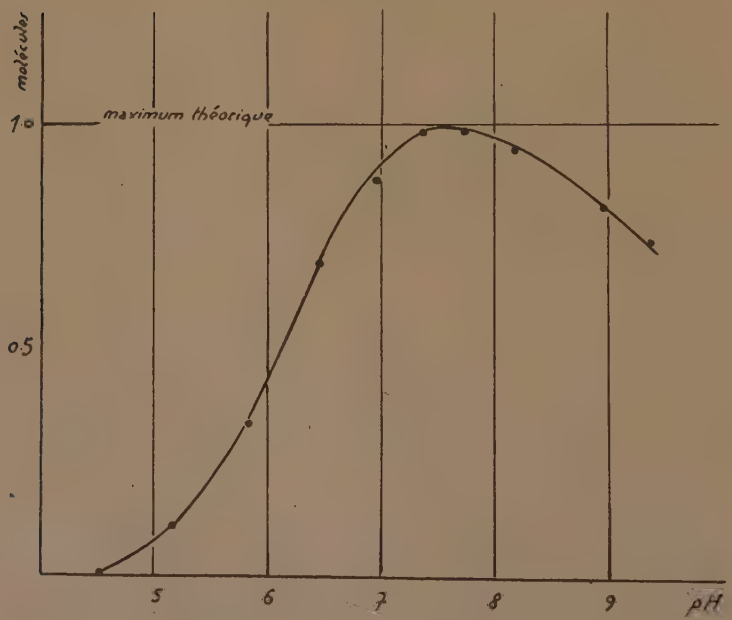
Nous avons utilisé la même technique que pour la colamine et l'aminométhylpropanol.

Ces expériences nous ont permis d'établir la courbe IV.

COURBE IV

Oxydation periodique de la sérine en fonction du pH

(1 minute à 4 °)



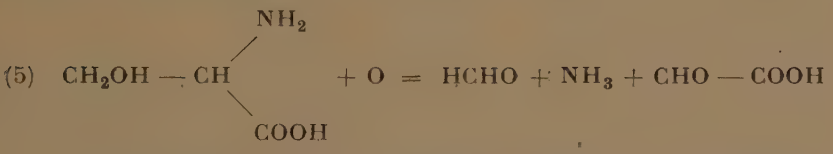
en abscisses : pH du milieu
en ordonnées : molécules d'acide periodique réduit par une molécule de sérine.

L'oxydation, nulle à pH 4,5 dans les modalités de l'expérience, progresse rapidement et présente un net optimum à pH 7,5.

A ce pH, la quantité d'acide periodique réduit, en 1 minute à 4°, est sensiblement égale au taux théorique.

Conclusions

L'oxydation periodique de la sérine s'effectue, dans un premier stade, selon l'équation :

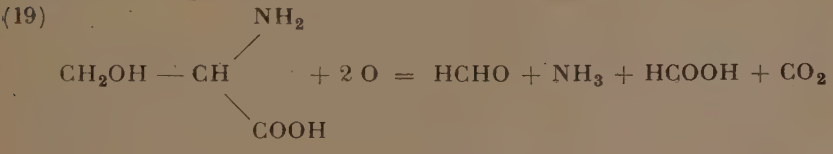


(5) $CH_2OH - CH(NH_2)(COOH) + O = HCHO + NH_3 + CHO - COOH$

Cette première phase est extrêmement rapide : en une minute à la température de 4°, à pH 7,5, une molécule de sérine réduit 0,98 molécules d'acide periodique.

La vitesse de l'oxydation est influencée par la réaction du milieu, comme pour les autres amino-alcools ; l'optimum se situe vers pH 7,5.

L'oxydation ultérieure de l'acide glyoxylique libéré est beaucoup plus lente ; elle ne paraît cependant perturbée par aucune réaction parasite, et, après 48 heures de contact à la température du laboratoire, nous avons pu observer qu'une molécule de sérine donnait naissance à une molécule d'anhydride carbonique, ce qui est conforme à l'équation envisagée :



(19) $CH_2OH - CH(NH_2)(COOH) + 2\,O = HCHO + NH_3 + HCOOH + CO_2$

Il apparaît possible de doser la sérine en déterminant l'anhydride carbonique libéré après une oxydation periodique de 48 heures à la température du laboratoire.

C) — ACIDES AMINES ALIPHATIQUES SIMPLES.

1° — ACTION DE L'ACIDE PERIODIQUE SUR LE GLYCOCOLLE

L'acide periodique oxyde — lentement à la température du laboratoire, rapidement à 100° — l'acide lactique en aldéhyde acétique et anhydride carbonique [R. BOISSON, *3*]. Il en est de même de l'acide mandélique, décarboxylé en aldéhyde benzoïque [J. COURTOIS, *11*]...

Il est donc possible d'envisager que, par analogie avec les acides alcools α, les acides α-aminés seront décarboxylés et désaminés par l'acide periodique, ce qui, dans le cas du glycocolle, pourrait être représenté par l'équation :

$$(21) \qquad CH_2(NH_2)(COOH) + O = HCHO + NH_3 + CO_2$$

Toutefois, NICOLET et SHINN [*34*] ont montré qu'à la température du laboratoire, il n'y avait pas d'oxydation appréciable.

L'échantillon soumis à l'action de l'acide periodique est un produit MERCK *pro usu medicinale,* en solution M/10.

Sa pureté a été contrôlée par la détermination de son point de fusion (P. F. = 248°) et le dosage de l'azote total (calculé : 1,40 — trouvé : 1,42).

Nous avons d'abord vérifié que la réduction de l'acide periodique, aussi bien en milieu acide (à pH 3,0) qu'en milieu alcalin (pH 8,0), était nulle après 8 heures de contact à la température du laboratoire.

Nous avons alors conduit nos expériences à 100°.

Oxydation à 100° en tubes scellés

Nous avons opéré à la température du bain-marie bouillant, en ampoules scellées, afin d'éviter les pertes par voltilisation.

Nous avons utilisé, comparativement à un témoin, le mélange suivant, tamponné à pH 7,6 :

Solution M/10 de glycocolle	5 cm³
Solution N/10 de periodate de sodium	15 cm³
Solution N/5 de soude	15 cm³
Solution M/5 de phosphate monopotassique ..	10 cm³
Eau distillée	5 cm³

Les ampoules sont plongées dans le bain-marie bouillant, et, après une heure de contact, l'acide periodique réduit est dosé par la technique habituelle :

Dans ces conditions, une molécule de glycocolle consomme 1,12 atomes d'oxygène.

Nous constatons ainsi que la quantité d'acide periodique réduit dépasse le taux théorique ; la réaction apparaît complexe, et il est, dès lors, possible de supposer que les produits de l'oxydation sont eux-mêmes attaqués.

Oxydation à 100° en circuit ouvert

Nous avons utilisé un dispositif (figure II) permettant d'éliminer à mesure de leur formation, les produits d'oxydation volatils qui prennent naissance au cours de la réaction, afin de les soustraire, en grande partie, à l'action du milieu oxydant.

L'oxydation se fait à la température du bain-marie bouillant, dans un ballon de 200 cm³ supportant, par un ajutage rodé, une colonne réfrigérante munie latéralement d'une tubulure par laquelle parvient un courant d'air.

Cet air est purgé d'ammoniaque éventuelle par barbottage dans un flacon-laveur *A* renfermant une solution d'acide sulfurique à 20 p. 100 en volumes.

Le réfrigérant est relié à quatre autres flacons-laveurs disposés en série.

Dans le cas présent (1), le premier — *n° 1* — contient de l'eau, et les trois autres, qui renferment une solution N/10 d'acide chlorhydrique, ne servent que de contrôle.

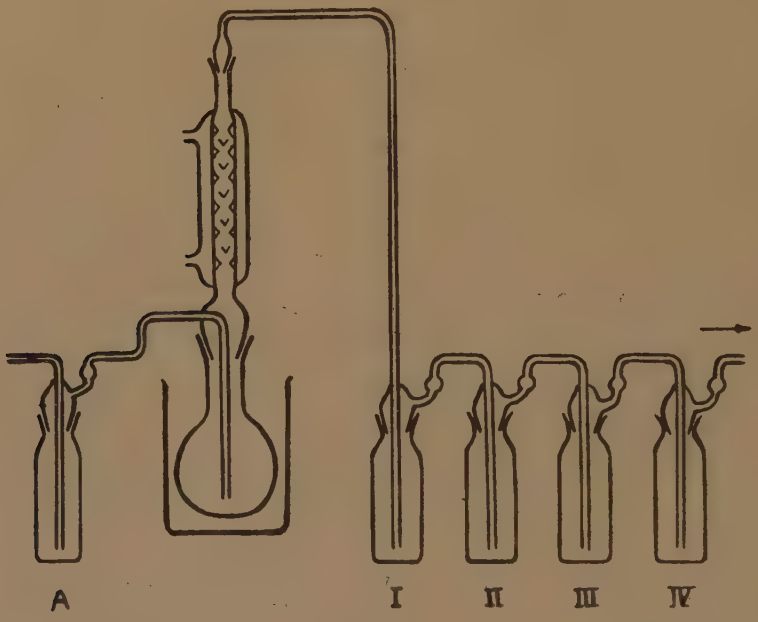


figure II

Une trompe modérément ouverte établit un courant d'air assez lent (deux litres par heure environ), qui, traversant l'appareil, déplace du milieu réactionnel les produits volatils libérés au cours de l'oxydation, ces produits étant fixés ensuite dans les flacons laveurs.

La prise d'essai utilisée est la même que précédemment (page **47**). Après une heure d'oxydation, nous dosons l'acide periodique réduit, après avoir refroidi le mélange.

Puis, après avoir constaté que la solution d'acide sulfurique contenue dans le flacon-laveur *n° 2* n'a pas fixé de gaz alcalin, nous dosons l'aldéhyde et l'ammoniaque sur deux parties aliquotes du contenu du flacon *n° 1*.

(1) Nous avons, par la suite (dosage de l'acétaldéhyde, entraînement de la méthylamine) utilisé cet appareil sans modifications, en placant dans les flacons laveurs les réactifs nécessaires (dimédon, réactif de Nessler, acide picrolonique).

L'ammoniaque est titrée par alcalimétrie en présence de colorant rouge de méthyle-bleu de méthylène, et l'aldéhyde par pesée de sa combinaison dimédonique, cette technique permettant de confirmer ensuite la nature de l'aldéhyde : le point de fusion, 188°, est celui de la méthylènediméthone.

Nous avons rassemblé dans le tableau VI les résultats obtenus.

TABLEAU VI

Oxydation periodique du glycocolle

pH : 7,6 — durée de contact : 1 heure — température : 100°	
molécules d'acide periodique réduit	1,27
molécules de formaldéhyde libéré (*dimédon*)	0,23
molécules d'ammoniaque formée	0,50
les résultats sont rapportés à une molécule de glycocolle	

Nous constatons qu'à la température de 100°, le glycocolle réduit en une heure plus d'une molécule d'acide periodique ; d'autre part, les quantités de formaldéhyde et d'ammoniaque libérés sont affectées d'un important déficit (théorie : 1,0).

L'équation (21) ne représente donc qu'une partie de l'oxydation, qui, à cette température, porte aussi sur les produits de la réaction, et particulièrement sur l'aldéhyde [R. BOISSON, *3*].

2° — ACTION DE L'ACIDE PERIODIQUE SUR L'ALANINE

Nous avons utilisé un échantillon de *d*-alanine HOFFMANN-LAROCHE, en solution M/10.

Nous pouvons représenter l'oxydation periodique théorique de cet amino-acide par l'équation :

$$(22)\quad CH_3 - \underset{\displaystyle COOH}{\overset{\displaystyle NH_2}{CH}} + O = CH_3 - CHO + NH_3 + CO_2$$

Une molécule d'alanine serait oxydée par une molécule d'acide periodique, et libérerait une molécule d'acétaldéhyde, une molécule d'ammoniaque, et une molécule d'anhydride carbonique.

Des essais préliminaires nous ont montré que l'oxydation, nulle à la température du laboratoire, après quatre heures de contact, aussi bien en milieu acide qu'en milieu alcalin, (1) est notable à 100°.

Aussi avons-nous effectué nos expériences à cette température.

Enfin, ces premiers résultats, bien approchés, nous ont montré que l'oxydation periodique de l'alanine était très sensible aux variations du pH du milieu.

Oxydation à 100° en tubes scellés

Nous opérons à la température du bain-marie bouillant, en ampoules scellées, avec le mélange suivant, tamponné à pH 7,6 :

Solution M/10 d'alanine	5 cm3
Solution N/10 de periodate de sodium	15 cm3
Solution N/ 5 de soude	10 cm3
Solution M/ 5 de phosphate monopotassique	15 cm3
Eau distillée	5 cm3

Deux séries d'essais sont soumises à l'oxydation, parallèlement aux mélanges témoins.

(1) VAN SLYKE, HILLER et MAC FADGEN [*41*] avaient observé qu'après six heures de contact à la température du laboratoire, l'oxydation periodique de l'alanine demeurait pratiquement insignifiante, quelle que soit la réaction du milieu.

Après une durée de contact convenable, nous dosons :

a) sur l'une, l'acide periodique réduit, puis, par cyanimétrie, l'aldéhyde libéré.

b) sur l'autre, l'ammoniaque formée, dans l'appareil de Pregl.

Les résultats obtenus après 30 minutes, 1 heure, 2 heures et 3 heures de contact, sont réunis dans le tableau VII :

TABLEAU VII

Oxydation periodique de l'alanine, en tubes scellés

pH : 7,6 — température : 100°				
durée de la réaction (en heures)	0,5	1	2	3
molécules d'acide periodique réduit ...	1,07	1,20	1,31	1,35
molécules d'aldéhydes libérés	0,13	0,07	0,07	0,06
molécules d'ammoniaque formée	0,33	0,41	0,47	0,50
les résultats sont rapportés à une molécule d'alanine				

REMARQUE. — Un mélange-témoin, dans lequel nous avons substitué à l'alanine 5 cm³ de solution N/10 d'ammoniaque (c'est-à-dire une quantité équivalente à celle qui devrait se former théoriquement), subit dans les mêmes conditions une attaque sensible : après deux heures d'oxydation à 100°, nous n'avons retrouvé que 85 p. 100 de l'ammoniaque mise en œuvre.

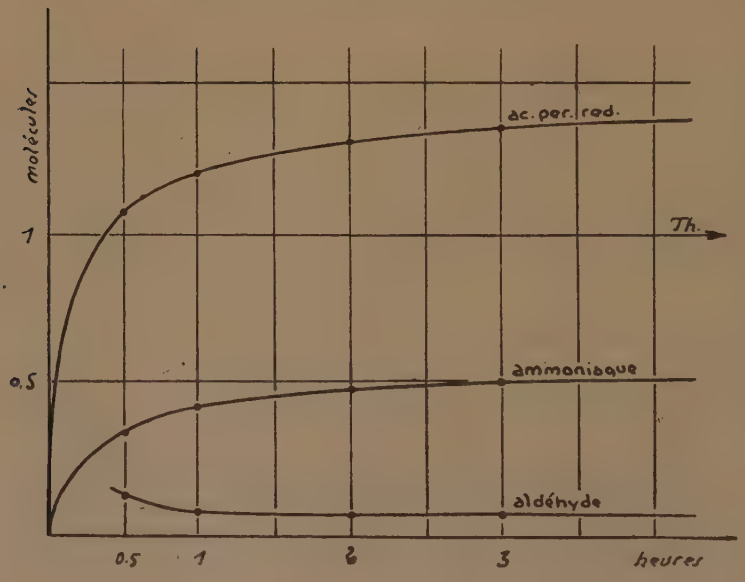
Nous pouvons constater que l'oxydation dépasse le taux théorique, puis progresse encore, lentement. Après une heure de réaction, elle affecte très nettement les aldéhydes. L'ammoniaque est moins attaquée ; elle n'atteint cependant, en trois heures, que la moitié de la valeur théorique.

La courbe V, établie d'après les données du tableau VII, rend manifeste la complexité de la réaction, qui, si elle s'effectuait conformément à l'équation (22), se traduirait par une courbe unique, où seraient confondus l'acide periodique réduit, l'ammoniaque formée, et l'aldéhyde libéré (une molécule de chacun d'eux).

COURBE V

Oxydation periodique de l'alanine en tubes scellés

(pH : 7,6 — température : 100°)



en abscisses : durée de contact, en heures

en ordonnées : { molécules d'acide periodique réduit
molécules d'ammoniaque libérée
molécules d'aldéhyde formé

(les résultats sont rapportés à une molécule d'alanine)

Caractérisation de l'aldéhyde formé

Nous avons identifié l'acétaldéhyde par sa combinaison dimédonique. En outre, nous avons pratiqué, selon la méthode de DESNUELLE [*16*], la réaction de FROMAGEOT-HEITZ, d'après laquelle l'acétaldéhyde, en présence de nitroprussiate et de piperazine hydratée produit une coloration bleue.

Pour effectuer ces deux réactions, nous avons utilisé l'appareil à déplacement précédemment decrit (figure II). Les flacons laveurs renferment alors :

le n° *1* : 5 cm3 d'eau distillée
les n^{os} *2* et *3* : 20 cm3 de solution saturée de dimédon
le n° *4* : 10 cm3 de solution diluée de réactif de Nessler

Le ballon renferme le mélange :

Solution M/10 d'alanine	20 cm3
Solution N/10 de periodate de sodium	60 cm3
Solution N/1 de soude	5 cm3
Solution M/1 de phosphate monopotassique	40 cm3

a) La liqueur contenue dans le flacon laveur *n*° *1* permet d'obtenir la réaction caractéristique de l'acétaldéhyde : la coloration est dichroïque, bleu pâle par transparence. Nous avons vérifié qu'un échantillon d'acétaldéhyde RHONE-POULENC, très dilué, provoquait, dans les mêmes conditions, une coloration identique.

b) Les précipités dimédoniques sont rassemblés, et dissous dans la quantité minimum d'alcool à 95° ; puis, de l'eau bouillante est ajoutée goutte à goutte jusqu'à faible opalescence. Après 24 heures de repos à la glacière, les cristaux, collectés par centrifugation, sont soumis à la dessiccation dans l'étuve à 60°. Le point de fusion du produit — 140° — est le même que celui que nous avons obtenu dans les mêmes conditions à partir de l'acétaldéhyde pur.

Oxydation à 100° en circuit ouvert

L'acétaldéhyde étant manifestement oxydée en tubes scellés, nous avons tenté, comme pour le glycocolle, de le séparer par entraînement du milieu réactionnel ; nous avons donc utilisé le même dispositif (figure II) :

Le flacon laveur *n*° *1* renferme de l'acide sulfurique titré, qui capte l'ammoniaque ; les autres flacons contiennent du réactif de Nessler, qui fixe l'acétaldéhyde ; (le dernier sert de contrôle ; en réalité, si le débit gazeux est maintenu lent et régulier, le réactif y est à peine troublé).

Il est ainsi possible de titrer l'ammoniaque, par titrage alcalimétrique indirect, en présence de colcrant rouge de méthyle-bleu de méthylène, puis l'acétaldéhyde, par détermination iodométrique du mercure réduit dans les flacons laveurs.

Les résultats de cette expérience sont réunis dans le tableau VIII.

TABLEAU VIII

Oxydation periodique de l'alanine en circuit ouvert

pH : 7,6 — durée de contact : 2 heures — température 100°	
molécules d'acide periodique réduit	1,48
molécules d'acétaldéhyde libéré	0,24
molécules d'ammoniaque formée	0,62
les résultats sont rapportés à une molécule d'alanine	

Nous constatons que le bilan ainsi obtenu est nettement amélioré par rapport à celui qui figure dans le tableau VII (oxydation en tubes scellés).

Cependant, l'aldéhyde paraît subir encore, dans ces conditions, une oxydation très importante, et l'ammoniaque est elle-même nettement attaquée.

Cet ensemble de résultats indique donc que si l'alanine est en partie oxydée selon l'équation (22), d'autres oxydations portent, soit sur l'alanine d'une façon distincte de (22), soit, plus vraisemblablement, sur les produits de la réaction,ammoniaque et surtout acétaldéhyde.

Influence de la réaction du milieu sur la vitesse de l'oxydation periodique

Nos expériences ont été pratiquées dans l'appareil à entraînement décrit ci-dessus.

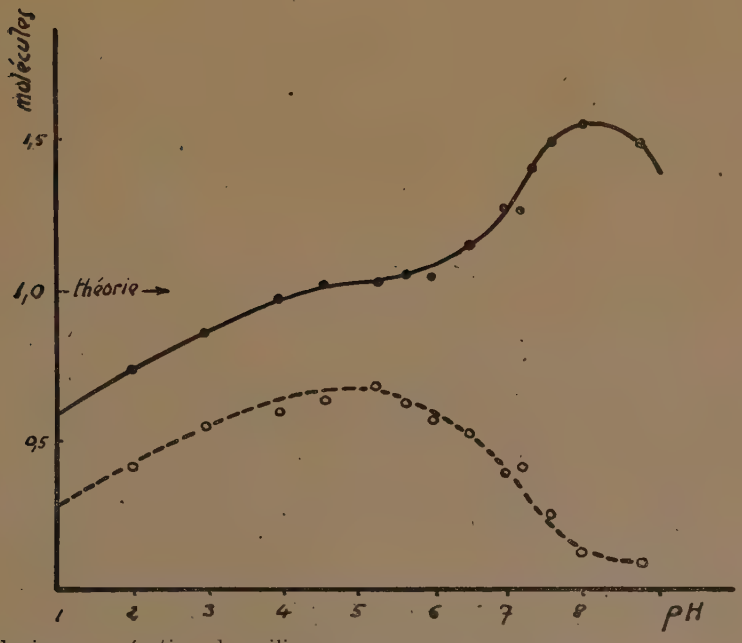
Les prises d'essai, tamponnées comme précédemment à différents pH par des mélanges convenables, sont successivement soumises à l'oxydation à 100°.

Après deux heures de réaction, le mélange est refroidi, et l'acide periodique en excès est réduit par l'addition du mélange acide sulfurique-iodure, la détermination de l'iode libéré permettant de doser l'acide periodique réduit, parallèlement à un mélange témoin chauffé au bain-marie bouillant pendant deux heures.

COURBE VI

Oxydation periodique de l'alanine en fonction du pH

(2 heures à 100°)



en abscisses : réaction du milieu

en ordonnées : ——— molécules d'acide periodique réduit

- - - - molécules d'acétaldéhyde libéré

(les résultats sont rapportés à une molécule d'alanine)

L'acétaldéhyde est dosé par titrage iodométrique du mercure réduit dans les flacons laveurs.

Nous constatons (courbe VI) que la quantité d'acide periodique réduit augmente jusqu'à pH 8,0, qui constitue l'optimum de la vitesse d'oxydation.

Sa courbe représentative, dans les conditions assez particulières où nous avons opéré, s'infléchit vers pH 5,0, alors que la courbe de l'acide periodique réduit croît brusquement : il semble que ce fait traduise une diminution de l'entraînement plus qu'une accélération de l'attaque, celle-ci s'effectuant surtout en milieu acide [R. BOISSON, *3*].

Conclusions

Nous avons vérifié que le glycocolle et l'alanine, soumis à l'action de l'acide periodique, ne subissent pas d'oxydation appréciable à la température du laboratoire.

A la température de 100°, ces deux amino-acides sont désaminés et décarboxylés selon l'équation :

$$(23) \quad R-CH\begin{matrix} NH_2 \\ CO_2H \end{matrix} + O = R-CHO + NH_3 + CO_2$$

La réaction est génératrice d'ammoniaque et d'aldéhyde : nous avons identifié la formaldéhyde dans l'oxydation du glycocolle, et l'acétataldéhyde dans celle de l'alanine.

Toutefois, à cette température, les produits de la réaction subissent une attaque très forte, et le rendement n'en est, en aucun cas, conforme à la théorie.

L'oxydation periodique de l'alanine présente un net optimum vers pH 8,0.

CHAPITRE II

AMINES SECONDAIRES

ACTION DE L'ACIDE PERIODIQUE SUR LA DIETHANOLAMINE

Nous n'avons étudié qu'un amino-alcool à fonction amine secondaire, la diéthanolamine.

Ce composé accompagne la mono- et la triéthanolamine dans le produit commercial dénommé « éthanolamine ».

D'après NICOLET et SHINN [*34*], la diéthanolamine est oxydée rapidement par l'acide periodique, avec libération de quatre molécules d'acide formique ; nous avons vérifié que la réaction était instantanée et complète, mais nous n'avons pas pu déceler l'acide formique ; nous n'avons trouvé, comme produits d'oxydation, que l'ammoniaque et le formaldéhyde (quatre molécules) :

$$HN\begin{cases} CH_2 - CH_2OH \\ CH_2 - CH_2OH \end{cases} + 2\ O' = NH_3 + 4\ HCHO \qquad (24)$$

Nous avons utilisé une solution M/10 du produit obtenu à partir de l' « éthanolamine technique » (Première partie, Chapitre III).

Nos premières expériences ont été effectuées avec le mélange :

Solution M/10 de diéthanolamine	3 cm^3
Solution N/10 de periodate de sodium	15 cm^3
Solution saturée de bicarbonate de potassium	10 cm^3

Après une minute de contact à la température du laboratoire, nous dosons, parallèlement à un témoin, l'acide periodique réduit, puis, par cyanimétrie, les aldéhydes libérés, l'ammoniaque étant titrée sur une prise d'essai similaire.

Les résultats obtenus sont réunis dans le tableau IX.

TABLEAU IX.

Oxydation periodique de la diéthanolamine

pH : 8,0 environ — durée de contact : 1 minute — température : 15°	
molécules d'acide periodique réduit	1,93
molécules d'aldéhydes libérés	3,83
molécules d'ammoniaque formée	0,93
les résultats sont rapportés à une molécule de diéthanolamine	

Nous avons vérifié qu'après une durée de contact prolongée, ces résultats n'étaient pas sensiblement modifiés : une molécule de diéthanolamine consomme en effet, vers pH 8,0 :

en 5 minutes : 1,94 atomes d'oxygène
en 1 heure : 1,96 » »
en 24 heures : 1,98 » »

Enfin, nous avons constaté qu'après 24 heures de contact à pH 5,0 (tampon : acide acétique-acétate de sodium), les résultats obtenus sont identiques :
Molécules d'acide periodique réduit, pour une molécule d'amine : 1,97.

Identification des aldéhydes libérés

Nous avons effectué, au moyen de la combinaison dimédonique, une détermination des aldéhydes libérés après une heure d'oxydation à la température du laboratoire, vers pH 8,0 :

Le composé obtenu fond à 188°, et son poids correspond à 3,51 molécules de formaldéhyde, ce qui permet, compte tenu du déficit escompté (15 p. 100 environ), d'affirmer que le formaldéhyde est le

seul aldéhyde engendré dans l'oxydation periodique de la diéthanolamine :

$$(24)\quad HN(CH_2 - CH_2OH)_2 + 2\,O = NH_3 + 4\,HCHO,$$

ce schéma étant d'ailleurs strictement conforme aux modalités prévisibles de l'oxydation periodique.

NOTE. — NICOLET et SHINN [*34*] avaient signalé une libération de quatre molécules d'acide formique. Cette formation apparaissait tout-à-fait anormale, et nous supposons qu'une erreur d'impression a altéré le sens de l'exposé des auteurs. C'est donc *aldéhyde formique* qu'il convient de lire dans le texte aux lieu et place *d'acide formique*.

Influence de la réaction du milieu sur la vitesse de l'oxydation periodique

Nous avons opéré comme pour la monoéthanolamine. Les prises d'essai :

{ Solution M/10 de diéthanolamine ..... 3 cm³
{ Solution N/10 de periodate de sodium ..... 15 cm³

sont tamponnées par les mêmes mélanges et refroidies dans la glace fondante.

La détermination de l'acide periodique est faite, comme précédemment, en milieu acide, par le dosage de l'iode libéré.

Les résultats obtenus permettent d'établir la courbe VII (page 60).

L'oxydation de cette amine secondaire est influencée, comme celle des amines primaires antérieurement étudiées, par la réaction du milieu.

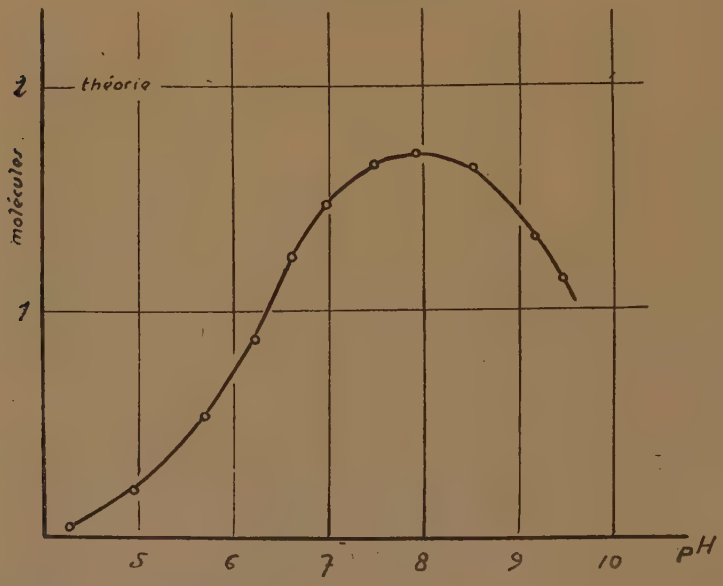
La vitesse de l'oxydation, très faible en milieu acide, passe par un maximum vers pH 8,0.

A ce pH, une molécule de diéthanolamine consomme, en 1 minute à 4°, 1,70 atomes d'oxygène, soit 85 p. 100 de la quantité théorique.

COURBE VII

Oxydation periodique de la diéthanolamine en fonction du pH

(température : 4°)



en abscisses : pH du milieu
en ordonnées : molécules d'acide periodique réduit par une molécule de diéthanolamine.

Conclusions

La diéthanolamine est oxydée très rapidement par l'acide periodique.

Une molécule de l'amino-alcool consomme deux atomes d'oxygène en libérant une molécule d'ammoniaque et quatre molécules de formaldéhyde, que nous avons pu identifier et doser :

$$\text{HN}\begin{matrix}\diagup\ \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{OH} \\ \diagdown\ \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{OH}\end{matrix} + 2\,\text{O} = \text{NH}_3 + 4\,\text{HCHO} \qquad (24)$$

Comme pour les amines primaires, la vitesse de l'oxydation est très nettement influencée par la réaction du milieu, l'optimum se situant vers pH 8,0.

CHAPITRE III

AMINES TERTIAIRES

Il semble, d'après les quelques recherches qui ont été effectuées sur les amines tertiaires, que leur structure confère à ces composés une certaine inertie vis-à-vis de l'acide periodique :

NICOLET et SHINN [*34*] ont montré que le diéthylaminoéthanol $(C_2H_5)\ ^2{=}N{-}CH_2{-}CH_2OH$ n'est pratiquement pas attaquée.

De même, la choline, hydrate d'hydroxyéthyltriméthylammonium, n'est pas oxydable [P. FLEURY et GUITARD, *23*].

Nous avons étudié deux représentants de cette catégorie : la triéthanolamine et la méthyldiéthanolamine ; ces deux composés possèdent des fonctions alcool portées sur un carbone voisin de celui qui est relié à la fonction amine (le diéthylaminoéthanol n'en porte qu'une seule) :

$$\begin{matrix} \diagup CH_2 - CH_3 \\ N - CH_2 - CH_3 \\ \diagdown CH_2 - CH_2OH \end{matrix}$$ diéthyléthanolamine

$$\begin{matrix} \diagup CH_3 \\ N - CH_2 - CH_2OH \\ \diagdown CH_2 - CH_2OH \end{matrix}$$ méthyldiéthanolamine

$$\begin{matrix} \diagup CH_2 - CH_2OH \\ N - CH_2 - CH_2OH \\ \diagdown CH_2 - CH_2OH \end{matrix}$$ triéthanolamine

1° — ACTION DE L'ACIDE PERIODIQUE SUR LA TRIETHANOLAMINE

La triéthanolamine semble pouvoir être oxydée par l'acide periodique suivant l'équation :

$$(25)\qquad \begin{matrix} \diagup CH_2 - CH_2OH \\ N - CH_2 - CH_2OH \\ \diagdown CH_2 - CH_2OH \end{matrix} \quad + \quad 3\,O \;=\; NH_3 + 6\,HCHO$$

Quelques expériences préliminaires, pratiquées selon les techniques habituelles, sur la prise d'essai

Solution M/10 de triéthanolamine	3 cm³
Solution N/10 de periodate de sodium	20 cm³
Solution saturée de bicarbonate de potassium .	10 cm³

montrent que la triéthanolamine est peu oxydable :

Les résultats obtenus sont réunis dans le tableau X.

TABLEAU X

Oxydation periodique de la triéthanolamine

pH : 7,5 environ — température : 25°

durée de la réaction (en heures)	1	4
molécules d'acide periodique réduit	0,27	0,84
molécules d'aldéhydes libérés	0,22	0,75
molécules d'ammoniaque formée	0,06	0,15

les résultats sont rapportés à une molécule de triéthanolamine

Identification des aldéhydes libérés

Nous avons caractérisé les aldéhydes libérés au moyen de la combinaison dimédonique, selon la méthode précédemment employée; le point de fusion et le poids du composé obtenu permettent d'affirmer que le formaldéhyde est le seul aldéhyde prenant naissance au cours de la réaction.

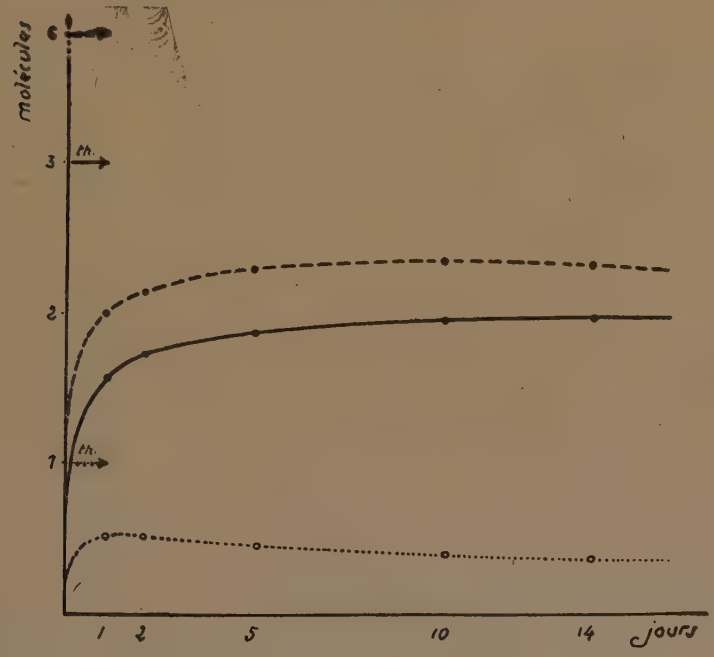
Oxydation periodique en fonction de la durée de contact

Une oxydation prolongée, effectuée à 37°, rend plus évidente l'inertie de la triéthanolamine, ainsi que le montre la courbe VIII.

COURBE VIII

Oxydation periodique de la triéthanolamine

(pH : 7,5 environ — température : 37°)



en abscisses : durée de contact (en jours).

en ordonnées : ——— molécules d'acide periodique réduit
– – – – molécules de formaldéhyde libéré
..... molécules d'ammoniaque formée

(les résultats sont rapportés à une molécule de triéthanolamine)

Nous constatons qu'après une oxydation de 14 jours dans l'étuve à 37°, la quantité d'acide periodique réduit n'atteint pas les 2/3 de la valeur prévue par l'équation (25).

L'oxydation paraît alors porter surtout sur les produits de la réaction, dont l'attaque est d'ailleurs favorisée par l'élévation de température.

Enfin, nous avons pu constater qu'à 100°, à pH : 7,5, une molécule de triéthanolamine ne consommait que 2,8 atomes d'oxygène en 4 heures, et qu'à pH 5,2 (tampon : acide acétique-acétate de sodium), la quantité d'acide periodique réduit n'atteignait, après 8 jours d'oxydation à 30°, qu'une seule molécule par molécule d'aminoalcool.

Influence de la réaction du milieu sur la vitesse de l'oxydation

Nous avons utilisé la prise d'essai :

Solution M/10 de triéthanolamine	2 cm³
Solution N/10 de periodate de sodium	15 cm³

tamponnée à différents pH comme précédemment.

Après un séjour d'une heure dans l'étuve à 37°, les mélanges sont refroidis, et l'acide periodique réduit est titré, en milieu acide, par dosage de l'iode libéré, suivant la technique habituelle.

Les résultats obtenus permettent d'établir la courbe IX (page 65).

L'oxydation de la triéthanolamine, bien que très lente, est également influencée par la réaction du milieu ; le pH optimum (7,6 environ) est toutefois moins accentué que pour les amines qui sont rapidement attaquées.

A pH 7,6, en 1 heure à 37°, une molécule de triéthanolamine ne réduit que 0,57 molécules d'acide periodique, soit sensiblement 1/6 de la quantité théorique.

Conclusions

La triéthanolamine est lentement et incomplètement oxydable par l'acide periodique.

La réaction, dont la vitesse est maximum vers pH 7,6, donne naissance à de l'ammoniaque et du formaldéhyde.

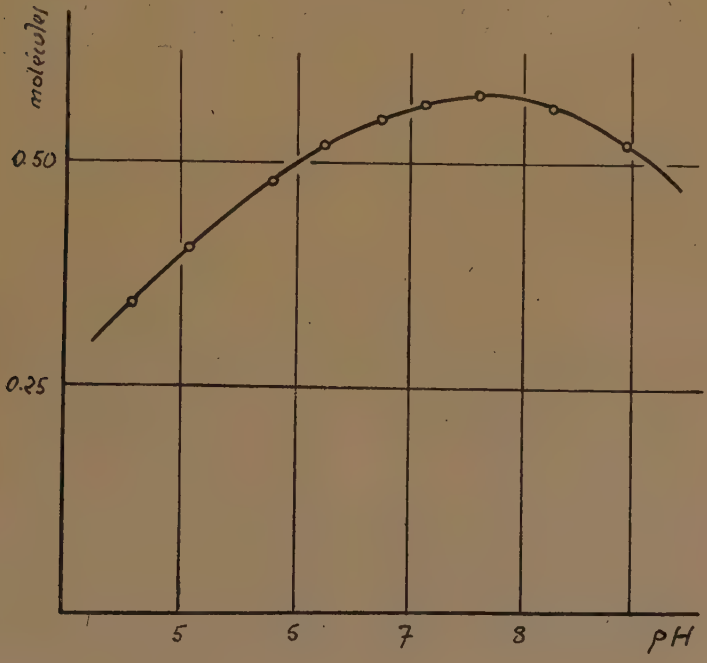
Seule une élévation de température permet une attaque notable ; les réactions secondaires sont alors très favorisées.

Cette inertie est comparable à celle du diéthylaminoéthanol, amine tertiaire étudiée par NICOLET et SHINN [*34*] : ce composé n'est pratiquement pas oxydé dans les conditions opératoires de ces auteurs.

COURBE IX

Oxydation periodique de la triéthanolamine en fonction du pH

(1 heure à 37°)



en abscisses : pH du milieu

en ordonnées : molécules d'acide periodique réduit par une molécule de triéthanolamine

2° ACTION DE L'ACIDE PERIODIQUE SUR LA METHYLDIETHANOLAMINE

Nous avons utilisé un produit LIGHT, en solution M/10, la pureté du composé étant vérifiée par titrage alcalimétrique (indicateur : rouge de méthyle-bleu de méthylène).

La méthyldiéthanolamine, sous l'action de l'acide periodique, semble devoir être oxydée suivant l'équation :

$$(26)\qquad CH_3 - N(CH_2 - CH_2OH)(CH_2 - CH_2OH) + 2\,O = CH_3 - NH_2 + 4\,HCHO$$

c'est-à-dire qu'une molécule serait oxydée en consommant deux atomes d'oxygène, et libérant une molécule de monométhylamine et quatre molécules de formaldéhyde.

En réalité, des essais préliminaires, effectués en milieu bicarbonaté suivant les techniques habituelles, montrent que l'oxydation est très lente : la réduction de l'acide periodique est infime à la température du laboratoire, et n'atteint, en une heure à 100°, qu'une molécule par molécule d'amine.

Nous avons conduit la plupart de nos expériences à 37°...

Oxydation periodique en fonction de la durée de contact

Les prises d'essai sont ainsi constituées :

Solution M/10 de méthyldiéthanolamine	2 cm3
Solution N/10 de periodate de sodium	10 cm3
Solution saturée de bicarbonate de potassium .	5 cm3

Ces mélanges sont disposés à l'étuve à 37°, de même que les témoins correspondants.

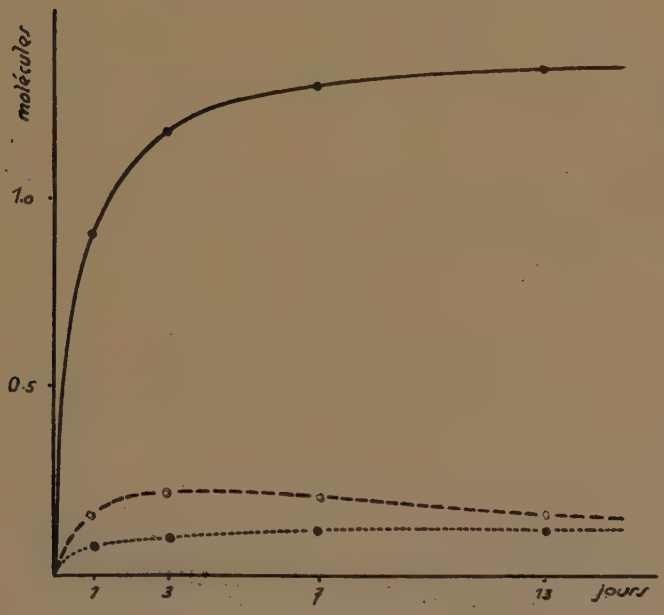
Après des durées de contact convenables, l'acide periodique réduit et les aldéhydes libérés sont dosés comme précédemment ; la monométhylamine est titrée alcalimétriquement, dans l'appareil de Pregl, suivant la technique utilisée pour la détermination de l'ammoniaque.

Les résultats obtenus figurent sur la courbe X.

COURBE X

Oxydation periodique de la méthyldiéthanolamine

(pH : 7,5 environ — température : 37°)



en abscisses : durée de contact (en jours).

en ordonnées :
- ——— molécules d'acide periodique réduit
- — — — molécules de formaldéhyde libéré
- ..... molécules de monométhylamine formée

(les résultats sont rapportés à une molécule d'amine)

Nous constatons que le rendement en monométhylamine et en aldéhyde est très faible : une combinaison des deux composés est vraisemblable, et nous pouvons admettre que l'oxydation porte principalement sur les produits de la réaction en même temps que sur l'éventuelle combinaison.

L'oxydation de la méthyldiéthanolamine, à 37°, est donc très complexe, et l'équation (26) ne traduit vraisemblablement pas la principale réaction.

Identification des aldéhydes libérés

Nous avons caractérisé les aldéhydes formés au cours de l'oxydation periodique de la méthyldiéthanolamine en les combinant au dimédon.

La prise d'essai est ainsi constituée :

Solution M/10 de méthyldiéthanolamine	5 cm³
Solution N/10 de periodate de sodium	15 cm³
Solution saturée de bicarbonate de potassium	5 cm³

Après 48 heures de contact à la température du laboratoire, l'acide periodique qui n'a pas réagi est réduit par un excès d'anhydride arsénieux.

Nous ajoutons alors 250 cm³ de solution saturée de dimédon : il se forme un précipité que nous recueillons, lavons et dessèchons suivant la technique habituelle.

La combinaison fond à 188°, point de fusion de la méthylènediméthone.

Caractérisation de la monométhylamine

Nous avons, au préalable, effectué nos expériences sur un échantillon de monométhylamine RHONE-POULENC, en solution aqueuse à 27,8 p. 100, avec les réactifs suivants :

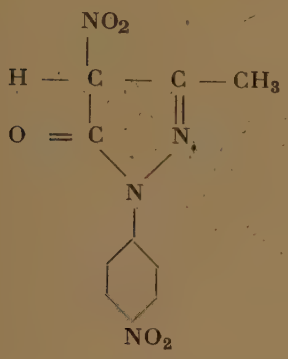
Acide picrique. — L'acide picrique, en solution aqueuse saturée, ne nous a pas donné satisfaction : le picrate ne précipite qu'à partir du chlorhydrate de méthylamine, et le moindre excès d'acide chlorhydrique provoque, par recul d'ionisation, une précipitation d'acide picrique. Enfin, la solubilité relative du composé (1,3 pour 100 parties d'eau) rend l'acide picrique peu propice à une identification, le rendement en méthylamine s'avérant très faible dans nos essais d'identification.

Sel de Reinecke. — Nous avons fait une rapide étude de la précipitation de quelques reineckates d'amines : seule parmi les composés que nous avons expérimentés, la monoéthylamine fournit une combinaison immédiate, en longues aiguilles soyeuses caractéristiques.

Avec la monométhylamine — comme avec l'ammoniaque — le précipité est lent à se former, et d'aspect pulvérulent atypique.

Acide rufianique. - Ce composé, qui fournit avec certaines amines des combinaisons bien cristallisées, ne donne avec la monométhylamine qu'une coloration violette, non distincte de celle que fournit l'ammoniaque dans les mêmes conditions.

Acide picrolonique. — Ce produit est la 1 - p - nitrophényl - 3 - méthyl - 4 - nitropyrazolone.



Nous l'avons employé en solution alcoolique saturée ; le précipité est immédiat et abondant, aussi bien avec la base qu'avec le chlorhydrate.

(Solubilité du picrolonate : 1 partie dans 1073 parties d'eau à 15°, 1 partie dans 4717 parties d'alcool à 15°.)

Nous avons d'abord recherché dans quelles conditions l'oxydation periodique de la méthyldiéthanolamine pouvait être améliorée au point de vue du rendement en amine à identifier.

En 2 heures à 100°, en milieu bicarbonaté, ce rendement — déterminé par titrage alcalimétrique dans l'appareil de Pregl — n'est que de 3 p. 100 par rapport à la quantité théorique.

Il atteint 10 p. 100, à 37°, en 48 heures, à pH 6,0.

Finalement, nous avons ainsi conduit nos expériences :

Le mélange

Méthyldiéthanolamine pure	2,5 cm³
Solution N/2 de periodate de sodium	100 cm³
Lessive de soude concentrée	4,5 cm³

contenu dans un ballon de 200 cm³, en verre Pyrex et à rodage normalisé, est placé dans l'étuve à 37°.

Après 48 heures d'oxydation, le ballon est adapté à l'appareil de Pregl, et après alcalinisation par un excès de lessive de soude, le gaz alcalin est entraîné par un courant de vapeur d'eau.

Le distillat est saturé au fur et à mesure par une solution normale d'acide chlorhydrique, en présence d'indicateur rouge de méthyle-bleu de méthylène : nous avons utilisé ainsi 2 cm³ de solution normale d'acide.

Nous préparons parallèlement deux échantillons similaires (2 cm³ de solution environ N/1) : l'un de chlorure d'ammonium, l'autre de chlorhydrate de monométhylamine. Après évaporation, au bain-marie, de ces trois solutions, nous déterminons les points de fusion des chlorhydrates, et observons leur état hygroscopique.

Les résidus d'évaporation sont dissous chacun dans quelques centimètres cubes d'eau distillée, et les solutions obtenues divisées chacune en deux portions :

L'une (quelques gouttes) est additionnée de réactif de Nessler — nous notons la coloration obtenue —; l'autre est versée dans 10 cm3 environ de solution alcoolique d'acide picrolonique : nous obtenons dans les trois mélanges un précipité immédiat.

Après lavage à l'eau distillée et dessiccation à l'étuve à 37°, nous déterminons le point de fusion de chacun des précipités.

Les résultats de ces diverses expériences sont réunis dans le tableau suivant :

TABLEAU XI

Caractères différentiels des composés obtenus à partir de l'ammoniaque pure, de la monométhylamine pure et du produit d'oxydation de la méthyldiéthanolamine

	chlorure d'ammonium	chlorhydrate de mono-méthylamine	chlorhydrate obtenu à partir de la méthyl-diéthanolamine
état hygrométrique	non hygroscopique	hygroscopique	hygroscopique
point de fusion	pas de P. F. instantané	225°	225°
réactif de Nessler	précipité brun	précipité jaune	précipité jaune
aspect du picrolonate	lamelles orangées	aiguilles jaunes	aiguilles jaunes
P. F. du picrolonate	275°	245°	245°

Nous avons également vérifié que le mélange des picrolonates obtenus l'un à partir de l'échantillon commercial, l'autre à partir du produit d'oxydation de la méthyldiéthanolamine fondait encore à 245°. (Ce chiffre, obtenu au bain d'huile, est identique à ceux que nous avons relevés dans la littérature)

Finalement, nous avons vérifié qu'après dissolution et recristallisation dans l'alcool — le picrolonate de méthylamine étant 30 fois plus soluble dans l'alcool bouillant que dans l'alcool froid —, le point de fusion de la combinaison n'était pas modifié.

Ces expériences permettent d'affirmer que la base volatile libérée au cours de l'oxydation periodique de la méthyldiéthanolamine est constituée par la monométhylamine.

Influence de la réaction du milieu sur la vitesse de l'oxydation

Les prises d'essai :

{ Solution M/10 de méthyldiéthanolamine .... 3 cm³
{ Solution N/10 de periodate de sodium ..... 15 cm³

sont tamponnées à différents pH par les mélanges précédemment utilisés dans les expériences similaires.

Après 24 heures d'oxydation à l'étuve à 37°, l'acide periodique réduit est dosé suivant la technique habituelle.

La représentation graphique des résultats obtenus permet d'obtenir la courbe XI.

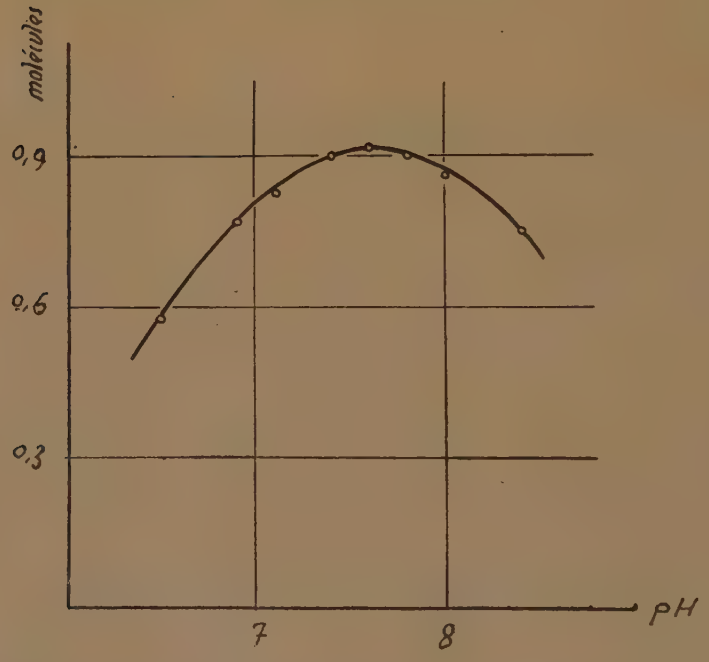
Nous constatons que la vitesse de l'oxydation periodique de la méthyldiéthanolamine est nettement influencée par la réaction du milieu.

Comme pour la triéthanolamine, l'optimum se situe vers pH 7,6. — Cet optimum est peu saillant, sans doute par suite de l'interférence de réaction secondaires.

COURBE XI

Oxydation periodique de la méthyldiéthanolamine en fonction du pH

(24 heures à 37°)



en abscisses : pH du milieu

en ordonnées : molécules d'acide periodique réduit par une molécule de méthyldiéthanolamine

CONCLUSIONS

DU CHAPITRE III

La méthyldiéthanolamine, comme la triéthanolamine, est très lentement et difficilement attaquée par l'acide periodique.

— Dans le cas de la méthyldiéthanolamine, le radical méthyle reste fixé à l'azote : il a, en effet, été possible d'identifier la monométhylamine qui a pris naissance. La réaction principale paraît donc être la rupture de la liaison des deux carbones portant, l'un l'azote, l'autre la fonction alcoolique. —

La réduction de l'acide periodique ne devient importante qu'à la faveur d'une élévation de température ; mais cette élévation de température paraît favoriser les réactions secondaires, et, de ce fait, les résultats globaux enregistrés manquent de netteté.

L'oxydation periodique des amines tertiaires subit, comme les amines primaires et secondaires, l'influence de la réaction du milieu : pour les deux composés étudiés, l'optimum, peu saillant, se situe vers pH 7,6.

CHAPITRE IV

DIAMINES

ACTION DE L'ACIDE PERIODIQUE SUR L'ETHYLENEDIAMINE

Il nous a paru intéressant d'étudier l'action de l'acide periodique sur ce composé, qui possède deux fonctions amine primaire.

L'éthylènediamine diffère en outre de tous les dérivés étudiés antérieurement par le fait qu'il ne possède pas d'oxhydrile.

Cette diamine, soumise à l'action de l'acide periodique, paraît devoir être oxydée suivant l'équation :

(27)
$$\begin{matrix} CH_2 - NH_2 \\ | \\ | \\ CH_2 - NH_2 \end{matrix} \xrightarrow[+\ OH^2]{+\ O} 2\ HCHO + 2\ NH_3$$

c'est-à-dire qu'une molécule d'éthylènediamine, en consommant un atome d'oxygène, libérerait deux molécules de formaldéhyde et deux molécules d'ammoniaque.

Rectification de l'éthylènediamine brute

Nous avons utilisé l'éthylènediamine hydratée RHONE-POULENC. Ce produit commercial, impur, a été rectifié de la façon suivante : 40 grammes d'éthylènediamine sont distillés sous pression normale : les produits de tête (4 grammes environ) passent vers 114° ; ils présentent une forte odeur ammoniacale. A 117°, nous recueillons la majeure partie du produit (86 p. 100). Le résidu est de 2 grammes environ.

Après avoir procédé à une seconde distillation, effectuée de façon identique, nous avons vérifié la pureté du produit rectifié : la teneur en éthylènediamine, déterminée par pesée du sulfate, est alors de 99 pour 100.

Solution d'éthylènediamine

Nous avons utilisé, pour chacune de nos expériences, une solution M/10 ainsi obtenue :

Quelques centimètres cubes d'éthylènediamine rectifiée sont neutralisés par une solution normale d'acide sulfurique en présence d'indicateur rouge de méthyle-bleu de méthylène.

Le volume x d'acide ainsi employé permet de déterminer la quantité d'eau à ajouter pour obtenir une solution décimoléculaire : il suffit de compléter le volume de la solution de sulfate d'éthylènediamine à $\frac{10\ x}{2}$, l'amine étant dibasique.

Essais préliminaires

a) — Nos premiers essais ont été effectués, vers pH 2,5, sur le mélange :

Solution M/10 d'éthylènediamine	5 cm³
Solution N/10 de periodate de sodium	15 cm³

Après 24 heures de contact à la température du laboratoire, nous déterminons la quantité d'acide periodique réduit par la technique iodométrique en milieu acide.

Dans ces conditions, l'oxydation est infime : une molécule d'éthylènediamine ne réduit que 0,08 molécules d'acide periodique.

b) — En milieu alcalin, le comportement de l'amine est très différent.

Nous avons utilisé la prise d'essai :

Solution M/10 d'éthylènediamine	3 cm³
Solution N/10 de periodate de sodium	10 cm³
Solution saturée de bicarbonate de potassium	5 cm³

— Ce milieu, tamponné vers pH 7,5 par le bicarbonate, permet, sans alcalinisation préalable, de doser l'acide periodique réduit par l'anhydride arsénieux. —

Après 24 heures de contact à la température du laboratoire, une molécule d'amine, à pH 7,5, consomme 1,15 atomes d'oxygène, ce qui montre, d'une part, que l'oxydation ne se fait pas exactement selon l'équation (27), et d'autre part, qu'elle est nettement influencée par la réaction du milieu.

Oxydation periodique en fonction de la durée de contact, à pH 7,5

Nous avons opéré en milieu bicarbonaté, comme ci-dessus. A des intervalles de temps convenables, nous dosons comme précédemment l'acide periodique réduit, puis les aldéhydes libérés, par cyanimétrie.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau XII.

TABLEAU XII

Oxydation periodique de l'éthylènediamine

pH : 7,5 — Température : 24°

durée de la réaction (en heures)	0,25	0, 5	1	2	4	8
molécules d'acide periodique réduit	0,19	0,31	0,43	0,52	0,71	0,85
molécules d'aldéhydes libérés	0,39	0,57	0,75	0,99	1,13	1,28
rapport molécules d'aldéhydes libérés / molécules d'acide periodique réduit	2,05	1,85	1,75	1,72	1,58	1,49

les résultats sont rapportés à une molécule d'éthylènediamine

L'oxydation est progressive, mais lente.

La quantité d'aldéhydes libérés, au debut de la réaction, est double de celle d'acide periodique réduit, ce qui est conforme à l'équation (27).

Toutefois, après 15 minutes de contact, elle est affectée d'un déficit croissant : en conséquence, le rapport

$$\frac{\text{molécules d'aldéhydes libérés}}{\text{molécules d'acide periodique réduit}}$$

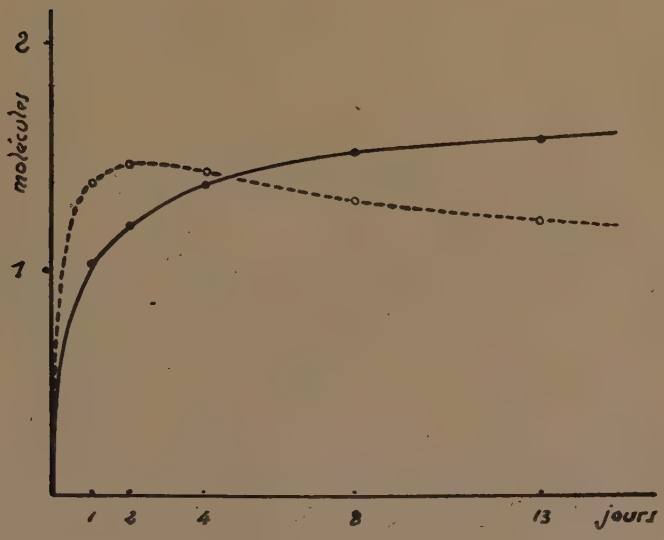
décroît entre 15 minutes et 8 heures d'oxydation de 2,0 (valeur théorique) à 1,5.

La courbe XII, où sont représentés les résultats d'une oxydation similaire pendant 13 jours, rend plus évidente l'allure de la réaction :

COURBE XII

Oxydation periodique de l'éthylènediamine à pH : 7,5

(température : 22-28°)



en abscisses : durée de contact (en jours).
en ordonnées : ——— molécules d'acide periodique réduit
-------- molécules d'aldéhydes libérés
(les résultats sont rapportés à une molécule d'éthylènediamine)

Nous constatons que, l'oxydation se prolongeant, la courbe représentative des aldéhydes s'infléchit nettement : après 46 jours, le rapport

$$\frac{\text{molécules d'aldéhydes libérés}}{\text{molécules d'acide periodique réduit}}$$

n'est plus que de 1/2, cependant que l'oxydation se poursuit lentement.

Identification des aldéhydes libérés.

Nous avons caractérisé les substances aldéhydiques libérées au moyen du dimédon, après une oxydation d'une heure, en milieu bicarbonaté : la combinaison fond à 188°, comme celle du formaldéhyde ; son poids correspond à 0,62 molécules de formaldéhyde par molécule d'amine.

Un titrage cyanimétrique, effectué sur une prise d'essai similaire après dosage de l'acide periodique réduit (0,42 molécules) permet de déterminer la quantité effective d'aldéhydes libérés : 0,72 molécules par molécule d'amine.

Cette comparaison, compte tenu du déficit escompté (15 p. 100 environ) permet d'affirmer que le formaldéhyde est le seul aldéhyde libéré par oxydation periodique de l'éthylènediamine.

Oxydation periodique en fonction de la durée de contact, à pH 4,9

Afin d'observer le rendement en formaldéhyde à un pH différent de 7,5, nous avons réalisé, en milieu acide, une oxydation periodique de l'éthylènediamine en fonction de la durée de contact :

Nous avons utilisé un mélange tamponné à pH 4,9, ainsi constitué:

Solution M/10 d'éthylènediamine	3 cm3
Solution N/10 de periodate de sodium	10 cm3
Solution 2 N d'acide acétique	5 cm3
Solution N/1 de soude	8 cm3

L'oxydation est effectuée à la température de 37°.

La détermination de l'acide periodique réduit est faite en milieu acide : l'iode libéré par l'addition du mélange acide sulfurique – iodure est titré par l'anhydride arsénieux après alcalinisation (1° Partie — Chapitre II), cette technique permettant le dosage ultérieur de l'aldéhyde par cyanimétrie.

Les résultats obtenus permettent d'établir la courbe XIII.

A pH 4,9, l'oxydation, même à la température de 37°, est très ralentie, et la quantité de formaldéhyde libéré décroît très rapidement.

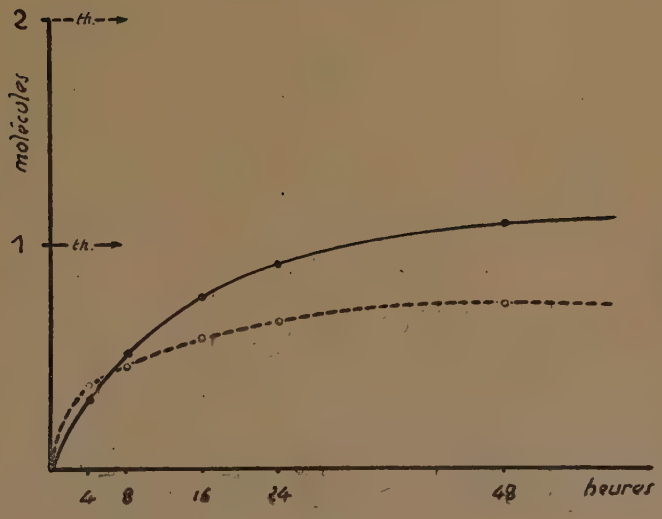
L'oxydation du formaldéhyde, qui est ici manifeste, semble donc plus sensible en milieu acide. (1)

(1) R. BOISSON [3] avait signalé que cette oxydation est favorisée par une acidification du milieu et par une élévation de température.

COURBE XIII

Oxydation periodique de l'éthylènediamine à pH : 4,9

(température : 37°)



en abscisses : durée de contact (en heures).

en ordonnées : ——— molécules d'acide periodique réduit
-------- molécules de formaldéhyde libéré

(les résultats sont rapportés à une molécule d'éthylènediamine)

Influence de la réaction du milieu sur la vitesse de l'oxydation

Le mélange :

Solution M/10 d'éthylènediamine 5 cm3
Solution N/10 de periodate de sodium 15 cm3

est tamponné à différents pH, puis soumis à l'oxydation periodique à la température du laboratoire.

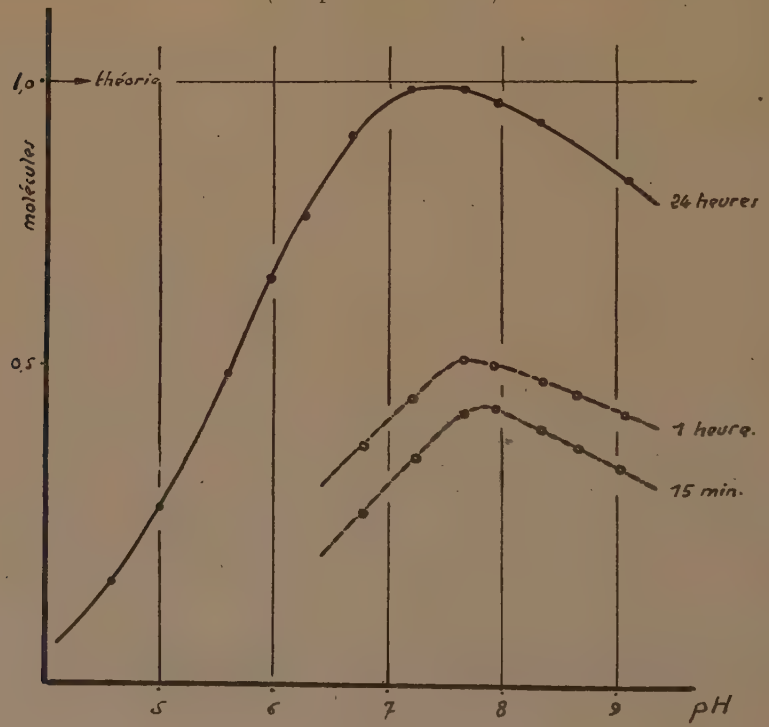
L'acide periodique réduit est dosé suivant la technique habituelle.

Nous avons effectué trois séries d'expériences, les durées de contact étant respectivement, pour chaque série, de 15 minutes, 1 heure et 24 heures.

Les résultats obtenus permettent d'établir la courbe XIV.

COURBE XIV

Oxydation periodique de l'éthylènediamine en fonction du pH
(température : 20°)



en abscisses : pH du milieu
en ordonnées : molécules d'acide periodique réduit par une molécule d'éthylènediamine.

Nous pouvons constater que l'oxydation, infime à pH 4,0, présente un net optimum vers pH 7,5 : une molécule d'amine consomme alors approximativement un atome d'oxygène en 24 heures.

D'autre part, l'optimum est d'autant plus déplacé vers la zone acide que la durée de contact est plus prolongée ; il semble donc bien que les réactions secondaires, qui, vraisemblablement, se superposent à l'oxydation essentielle, soient sensiblement accélérées en milieu acide.

Détermination de l'ammoniaque libérée

Nous avons utilisé des mélanges tamponnés à pH 7,5 (pH optimum), ainsi constitués :

- Solution M/10 d'éthylènediamine 3 cm3
- Solution N/10 de periodate de sodium 10 cm3
- Solution saturée de bicarbonate de potassium 5 cm3

Deux séries d'expériences ont été pratiquées, l'une destinée à la détermination de l'acide periodique réduit, l'autre à celle de l'ammoniaque libérée.

L'ammoniaque est dosée dans l'appareil de Pregl, par titrage alcalimétrique, au moyen d'une solution N/50 d'acide sulfurique, en présence d'indicateur bleu de méthylène-rouge de méthyle.

Les résultats obtenus après 2 heures, 6 heures, et 16 heures de réaction, sont rassemblés dans le tableau XIII.

TABLEAU XIII

Oxydation periodique de l'éthylènediamine

pH : 7,5 — température : 17°			
durée de la réaction (en heures)	2	6	16
molécules d'acide periodique réduit	0,41	0,61	0,81
molécules d'ammoniaque libérée	0,80	1,10	1,26
Rapport : $\frac{\text{molécules d'ammoniaque libérée}}{\text{molécules d'acide periodique réduit}}$	2,02	1,80	1,55
les résultats sont rapportés à une molécule d'éthylènediamine			

Nous constatons que la quantité d'ammoniaque libérée diminue progressivement ; elle n'est conforme à l'équation théorique qu'au début de l'oxydation. Toutefois, le rendement en ammoniaque est nettement moins déficitaire que le rendement en aldéhyde (tableau XII). De plus, le déficit n'en apparaît pas de façon aussi précoce — 3 heures au lieu de 15 minutes. —

Influence de la concentration des réactifs

P. FLEURY et GUITARD, [*23*] ont mis en évidence l'influence de la dilution dans l'oxydation periodique de la colamine.

Nous avons recherché si, par un mécanisme analogue, une concentration convenable était susceptible d'apporter, dans le cas de l'éthylènediamine, une amélioration dans le rendemen. en ammoniaque et en formaldéhyde.

Nous avons utilisé la prise d'essai :

Solution M/10 d'éthylènediamine	3 cm3
Solution N/10 de periodate de sodium	10 cm3
Solution saturée de bicarbonate de potassium	5 cm3
Eau distillée	2 cm3

Après 2 heures de contact à la température du laboratoire, nous dosons, suivant les techniques habituelles :

a) — l'acide periodique réduit

b) — le formaldéhyde libéré, par titrage cyanimétrique

c) — l'ammoniaque formée, par alcalimétrie, sur un mélange similaire.

Nous avons effectué les mêmes déterminations sur des prises d'essai identiques, mais portées par dilution à des volumes double, triple et quadruple.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau XIV.

TABLEAU XIV

Oxydation periodique de l'éthylènediamine en fonction de la dilution

pH : 7,5 environ — durée de contact : 2 heures — température : 17°				
volume d'eau, en cm3, ajouté à la prise d'essai (20 cm3) avant l'oxydation	0	20	40	60
molécules d'acide periodique réduit .	0,41	0,36	0,35	0,31
molécules de formaldéhyde libéré ...	0,71	0,68	0,65	0,56
molécules d'ammoniaque formée ...	0,81	0,80	0,75	0,70
les résultats sont rapportés à une molécule d'éthylènediamine				

Nous constatons que, quelle que soit la concentration, les rapports :

$$\frac{\text{molécules d'aldéhydes libérés}}{\text{molécules d'acide periodique réduit}} \quad (1{,}75 \text{ environ})$$

et $$\frac{\text{molécules d'ammoniaque libérée}}{\text{molécules d'acide periodique réduit}} \quad (2{,}0 \text{ environ})$$

restent à peu près constants.

Nous pouvons donc conclure de ces expériences que le processus de l'oxydation periodique de l'éthylènediamine est indépendant de la dilution.

Détermination du formaldéhyde libéré après hydrolyse de ses combinaisons éventuelles

Il est possible d'envisager, dans une oxydation prolongée de l'éthylènediamine, une combinaison de l'ammoniaque et du formaldéhyde libérés, telle que l'hexaméthylènetétramine, qui serait engendrée dans le milieu suivant la réaction classique :

(28) $$6\ HCHO + 4\ NH_3 = (CH_2)^6N_4 + 6\ OH_2$$

— Nous avons observé que l'hexaméthylènetétramine est lentement oxydable par l'acide periodique : en 5 jours, à la température du laboratoire, une molécule de ce composé réduit 0,19 molécules d'acide periodique. —

Ayant envisagé une telle combinaison du formaldéhyde, nous avons tenté de le libérer par hydrolyse sulfurique :

Il est nécessaire d'éliminer au préalable l'acide periodique et l'acide iodique contenus dans le milieu : nous avons utilisé comme déféquant une solution à 30 p. 100 d'acétate neutre de plomb (réactif de Courtonne).

Le filtrat est ensuite additionné d'un excès d'acide sulfurique, qui précipite le plomb et rend le milieu favorable à l'hydrolyse. Cette hydrolyse est effectuée — sans filtration préalable — dans l'appareil de Pregl, où le formaldéhyde est entraîné par un courant de vapeur d'eau. Nous l'avons finalement dosé à l'aide du réactif de Nessler.

Sur une prise d'essai similaire, nous avons dosé l'acide periodique réduit, puis, par cyanimétrie, le formaldéhyde libéré.

Les résultats obtenus, après 24 heures de contact à la température du laboratoire, à pH 7,6, permettent d'établir le bilan suivant :

acide periodique réduit : 1,0 molécule par molécule d'amine
formaldéhyde libéré (avant hydrolyse) : 1,10 molécules » »
formaldéhyde libéré (après hydrolyse) : 1,25 molécules » »

Ces résultats montrent que le titrage cyanimétrique ne porte pas sur la totalité de l'aldéhyde, dont une fraction paraît dissimulée.

Il semble donc possible d'attribuer à la formation d'hexaméthylènetétramine, une partie du déficit en aldéhyde et en ammoniaque.

Etude de l'éventuelle combinaison formaldéhyde-éthylènediamine

Nous avons en outre envisagé une combinaison, au cours de la réaction, entre le formaldéhyde libéré dans l'oxydation initiale et la fraction de l'amine qui n'a pas encore été attaquée.

Certaines de nos expériences semblent mettre en évidence une telle combinaison :

1° — Nous avons mis en présence, en milieu bicarbonaté :

3 cm³ de solution M/10 d'éthylènediamine,
10 cm³ d'une solution M/10 de formaldéhyde.

Après 20 heures de contact à la température du laboratoire, la quantité d'aldéhyde titrable par la méthode cyanimétrique ne représente plus que 88 p. 100 du formaldéhyde mis en œuvre.
(Après 65 heures, nous n'en trouvons plus que 70 p. 100).

D'autre part, après une même durée de contact de 20 heures, nous avons effectué une oxydation periodique sur un mélange identique :

Le mélange consomme, en 3 heures, 0,63 atomes d'oxygène par molécule d'amine, alors que dans les mêmes conditions, l'éthylènediamine seule n'en consomme que 0,55.

Il semble donc bien qu'il y ait eu combinaison entre le formaldéhyde et l'éthylènediamine, cette combinaison étant elle-même oxydable par l'acide periodique.

2° — Nous avons alors préparé deux séries de mélanges, chacun des mélanges comportant :

{ des doses fixes d'éthylènediamine
{ des quantités variables de formaldéhyde.

Nous laissons en contact 40 heures, puis :

a) — sur l'une des séries, nous déterminons la quantité de formaldéhyde titrable par cyanimétrie.

b) — sur la seconde, nous effectuons une oxydation periodique de 3 heures.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau XV.

TABLEAU XV

Détermination du formaldéhyde non combiné et oxydation periodique du mélange éthylènediamine-formaldéhyde

quantité de formaldéhyde ajouté à 5 cm3 de solution M/10 d'éthylènediamine (exprimé en cm3 de solution M/10 :	formaldéhyde dosé après 40 heures de contact (exprimé en cm3 de solution M/10) :	déficit p. 100	atomes d'oxygène consommé par molécule d'amine, après 40 heures de contact, plus 3 heures d'oxydation periodique :
0	0	0	0,54
5	4,90	2,0	0,38
10	8,95	10,5	0,48
20	17,15	14,2	0,68
30	25,60	14,6	0,70

Ces expériences nous permettent de vérifier que le formaldéhyde se combine à l'éthylènediamine :

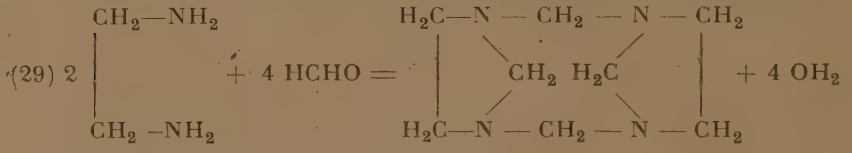
La quantité de formaldéhyde combiné est proportionnelle au volume d'aldéhyde mis en œuvre.

D'autre part, l'acide periodique attaque la combinaison, et l'oxydation est elle-même proportionnelle au déficit en aldéhyde.

— Il paraît intéressant de rapprocher ces faits de la courbe XII, dont le tracé traduit ainsi l'action de l'acide periodique sur la combinaison de l'éthylènediamine avec le formaldéhyde. —

Préparation et oxydation periodique de la diéthylènetétraméthyltétramine

BISCHOFF [2] admet que l'éthylènediamine et le formaldéhyde se combinent, à la température ordinaire, suivant la réaction :



(29)

Cet auteur donne une méthode de préparation de la diéthylènetétraméthyltétramine ainsi formée.

Nous en avons suivi le principe et avons pu obtenir un composé bien cristallisé :

Dans un ballon de 500 cm³, nous mélangeons :

Solution d'éthylènediamine technique	20 cm³
Solution à 30 p. 100 de formaldéhyde	30 cm³
Eau distillée	180 cm³

Nous agitons pendant 2 heures, puis distillons sous pression réduite (le distillat aqueux, sans intérêt, est reçu dans une fiole de Kitasato reliée à une trompe à vide).

Nous obtenons ainsi un résidu épais et jaunâtre, que nous épuisons 3 ou 4 fois par l'éther.

Le solvant, évaporé, abandonne de gros cristaux colorés en jaune ; nous les avons purifiés par plusieurs recristallisations successives dans le benzène.

Le composé (rendement : 2 grammes environ) obtenu finalement, est constitué de beaux cristaux blancs, qui présentent les mêmes caractéristiques que ceux qu'avait obtenus BISCHOFF. — Le point de fusion, en particulier, est identique (180° au bloc de Maquenne). —

Nous avons constaté que la diéthylènetétraméthyltétramine, soumise à l'action de l'acide periodique, subit une attaque sensible :

Nous avons utilisé une solution M/10 du produit (P. M. : 144).

En milieu bicarbonaté (pH : 8,2), une molécule de diéthylènetétraméthyltétramine consomme :

en 2 heures : 0,17 atomes d'oxygène
en 24 heures : 0,97 » »
en 48 heures : 1,15 » »

L'oxydation est donc très nette.

— Il importe cependant de remarquer qu'une molécule de ce composé correspond à quatre molécules de formaldéhyde et à deux molécules d'éthylènediamine : pour comparer les consommations ci-dessus à celles de quantités équivalentes d'éthylènediamine, il faut donc les diviser par deux. (Mais il faut noter d'autre part que les fonctions amine tertiaire du composé devraient lui conférer une inertie relative vis-à-vis de l'acide periodique.) —

Ainsi, il est vraisemblable que l'oxydation de la diéthylènetétraméthyltétramine résultant de la combinaison de l'aldéhyde et de l'éthylènediamine se superpose peu à peu à la réaction primitive et que cette oxydation constitue l'élément perturbateur essentiel de cette réaction.

Conclusions

L'éthylènediamine est lentement oxydée par l'acide periodique, avec mise en liberté de formaldéhyde et d'ammoniaque.

Cette oxydation, qui présente un net optimum vers pH 7,5, s'effectue, au début de la réaction, selon l'équation :

$$(27) \quad \begin{matrix} CH_2 - NH_2 \\ | \\ | \\ CH_2 - NH_2 \end{matrix} \xrightarrow[+\ OH_2]{+\ O} 2\ HCHO + 2\ NH_3$$

L'attaque se prolongeant, la consommation d'oxygène dépasse le taux théorique, cependant que les produits de l'oxydation accusent un déficit croissant.

La réaction devient très complexe, par suite des oxydations secondaires.

Ces oxydations secondaires paraissent porter :

1) sur l'aldéhyde, dont l'attaque, très lente, et négligeable à la température du laboratoire, est favorisée en milieu acide et par une élévation de la température.

2) sur l'hexaméthylènetétramine qui se forme à partir du formaldéhyde et de l'ammoniaque libérés

3) sur la diéthylènetétraméthyltétramine, produit de condensation du formaldéhyde libéré et de l'éthylènediamine qui n'a pas encore été attaquée.
Nous avons pu préparer ce composé et vérifier que l'acide periodique l'attaquait de façon sensible.

TROISIEME PARTIE

APPLICATIONS ANALYTIQUES

Il nous a paru intéressant d'appliquer les résultats de nos essais au dosage de certains composés aminés dans leurs mélanges.

Nous avons tenté de le réaliser dans deux cas d'intérêt pratique, l'un d'ordre industriel : analyse du mélange d'éthanolamines, l'autre d'ordre biologique : dosage de la sérine et de la colamine dans leur mélange.

CHAPITRE I

ANALYSE D'UN MELANGE D'ETHANOLAMINES

Les éthanolamines, en raison de leur facile préparation industrielle et de l'étendue de leurs usages, ont acquis une grande importance pratique. Leurs applications sont nombreuses, soit qu'elles interviennent comme déshydratants, plastifiants, catalyseurs ou agents de stabilisation, soit surtout qu'elles servent à la fabrication de savons, dont l'usage comme émulsifiants se répand de plus en plus.

Or, le produit commercial couramment désigné sous le nom d'« éthanolamine » est un mélange des trois amines primaire, secondaire et tertiaire, et il peut être intéressant d'y déterminer les proportions relatives de chacune d'elles. — Ainsi, les sels et les savons obtenus avec ces composés sont d'autant plus alcalins et d'autant plus volatils que le taux de monoéthanolamine est plus élevé dans le mélange ; il en est de même, à un degré moindre, de la diéthanolamine.

Le comportement différent des trois amino-alcools, du double point de vue de leur aptitude à réagir vis-à-vis de l'acide periodique et des modalités de leur oxydation, permet, ainsi que nous le montrons, l'analyse de leur mélange.

Principe de la technique proposée

Nous avons observé au cours des chapitres précédents que la *triéthanolamine*, après un contact de courte durée, n'est pratiquement pas attaquée par l'acide periodique.

Le mélange des trois composés étant titrable alcalimétriquement, la différence entre l'alcalinité totale et l'ammoniaque libérée sous l'influence de l'acide periodique, (qui correspond à la somme mono + diéthanolamine) permet de calculer la quantité de triéthanolamine contenue dans le mélange.

D'autre part, nous avons constaté que la *mono* et la *diéthanolamine* étaient oxydables par l'acide periodique selon les équations :

(17) $NH_2 - CH_2 - CH_2OH + O = NH_3 + 2\ HCHO$

(24) $NH(CH_2 - CH_2OH)_2 + 2\ O = NH_3 + 4\ HCHO$

En traduisant schématiquement ces équations, nous pouvons écrire :

(30) 1 monoéthanolamine + 1 periodate = 1 ammoniaque + 2 aldéhydes
(31) 1 diéthanolamine + 2 periodate = 1 ammoniaque + 4 aldéhydes

Il en découle les égalités suivantes :

(32) monoéthanolamine = 2 ammoniaque — 1 periodate
(33) diéthanolamine = 1 periodate — 1 ammoniaque.

Il est donc possible de déterminer les proportions de mono —, de di —, et de triéthanolamine dans leur mélange en utilisant simplement la quantité d'acide periodique réduit et celle d'ammoniaque libérée, l'alcalinité du mélange permettant de calculer, par différence, la teneur en triéthanolamine.

L'oxydation du mélange est effectuée en milieu bicarbonaté (propice à la réduction ultérieure de l'acide periodique en excès), et avec un excès de réactif (un titrage préliminaire approximatif permettant d'apprécier le volume de solution de periodate nécessaire à la réaction).

De plus, la prise d'essai doit être suffisamment diluée, la monoéthanolamine devant se trouver à une concentration inférieure au titre M/80 [P. FLEURY et GUITARD, *23*].

Sur des portions aliquotes du mélange, nous dosons, après 5 minutes de contact à la température du laboratoire :

a) l'acide periodique réduit, par l'anhydride arsénieux
b) l'ammoniaque, dans l'appareil de Pregl
c) l'alcalinité totale, en présence du colorant rouge de méthyle-bleu de méthylène, au moyen d'une solution titrée d'acide.

Toutefois, nous avons constaté, à la suite de nombreuses expériences, que les résultats obtenus dans ces conditions, sont affectés d'une erreur constante portant par excès sur la diéthanolamine et, par voie de conséquence, par défaut sur la monoéthanolamine.

Cette erreur est évidemment due au fait que la monoéthanolamine consomme, non pas un atome d'oxygène, mais 1,08 atomes. Il convient d'en tenir compte dans le calcul des résultats :

Les équations (32) et (33) seront donc ainsi corrigées :

$$(34)\quad \text{monoéthanolamine} = \frac{2\ \text{ammoniaque}-1\ \text{periodate}}{0{,}92}$$

$$(35)\quad \text{diéthanolamine} = \frac{1\ \text{periodate}-1{,}08\ \text{ammoniaque}}{0{,}92}$$

Technique du dosage

S'il s'agit d'une solution concentrée, telle que l'« éthanolamine technique », il convient, ainsi que nous l'avons vu : d'une part, d'évaluer la quantité d'acide periodique nécessaire à la réaction, d'autre part, de déterminer la dilution convenable.

Ces conditions ont été observées dans la technique que nous proposons ci-dessous.

Toutefois, si la réduction de l'acide periodique est peu sensible (dans le cas, par exemple, d'une solution très diluée, ou d'un produit d'une très forte teneur en triéthanolamine), il peut être préférable d'utiliser une prise d'essai plus importante.

Protocole opératoire. — Dans une fiole jaugée de 100 cm³, nous pesons 1 gramme du produit, que nous dissolvons dans de l'eau distillée, q. s. p. 100 cm³.

1° — Nous prélevons 10 cm³ de la solution et procédons à son titrage par l'acide sulfurique N/10 en présence de l'indicateur R.-B. (rouge de méthyle-bleu de méthylène) [*19*]. Soit *n* cm³ versés jusqu'au virage.

2° — Dans un Erlenmeyer de 150 cm³, nous mesurons :
10 cm³ de la dilution d'éthanolamine
25 cm³ de la solution environ N/10 de periodate de sodium (1)
10 cm³ de solution de bicarbonate de potassium à saturation
50 cm³ environ d'eau distillée.

(1) Solution de periodate :

métaperiodate de sodium	15 gr.
acide sulfurique N/1	150 cm³
eau distillée, q. s. p.	1.000 cm³

Dans un second flacon, nous réalisons un essai témoin analogue en substituant à la solution d'éthanolamine 10 cm³ d'eau distillée.

Après 5 minutes de contact à la température du laboratoire, nous ajoutons dans chacun des deux flacons 30 cm³ d'anhydride arsénieux bicarbonaté N/10 et 2 cm³ d'iodure de potassium à 20 p. 100.

Nous laissons en contact 15 minutes, puis titrons l'excès d'anhydride arsénieux par l'iode N/10 (sans addition d'empois d'amidon) :

Soit n^1 cm³ versés dans l'essai témoin

et n^2 cm³ versés dans le mélange réactionnel.

10 cm³ de solution d'éthanolamine ont donc réduit $n^1 - n^2$ cm³ d'acide periodique N/10 (0,05 M),

soit $\frac{n^1 - n^2}{2}$ cm³ d'acide periodique M/10.

3° — Dans un flacon jaugé de 150 cm³, nous introduisons 10 cm³ de la dilution d'éthanolamine.

L'oxydation periodique est réalisée comme en 2°, puis nous ajoutons l'anhydride arsénieux et l'iodure de potassium et diluons à 150 cm³.

30 cm³ du mélange sont introduits dans le ballon ovoïde d'un appareil de Pregl à entraînement par la vapeur d'eau ; nous alcalinisons par 5 cm³ de lessive de soude, puis l'ammoniaque, distillée et condensée, est titrée au fur et à mesure par une solution N/50 d'acide sulfurique en présence de colorant R.-B. Soit n^3 cm³ versés.

10 cm³ de prise d'essai correspondent donc à 5 n^3 cm³ d'acide N/50, soit n^3 cm³ d'acide N/10.

Calcul des résultats. - Désignons par x le nombre de cm³ de monoéthanolamine M/10 contenus dans 10 cm³ de la prise d'essai, — y celui de diéthanolamine, et z celui de triéthanolamine.

Nous pouvons écrire, d'après les équations précédentes (31) et (32) :

$$\begin{cases} x = \dfrac{2n^3 - \dfrac{n^1 - n^2}{2}}{0{,}92} \\ y = \dfrac{\dfrac{n^1 - n^2}{2} - 1{,}08\, n^3}{0{,}92} \\ z = n \quad n^3 \end{cases}$$

Or, 1 cm³ de monoéthanolamine M/10 contient 6,1 mg d'amine
1 cm³ de diéthanolamine » » 10,51 »
1 cm³ de triéthanolamine » » 14,91 »

Donc, (la prise d'essai de 10 cm³ renfermant 0,1 gramme du produit), 100 grammes d' « éthanolamine » contiennent :

$$\left\{\begin{array}{l} 6{,}1\ x \text{ grammes de monoéthanolamine} \\ 10{,}5\ y \text{ grammes de diéthanolamine} \\ 14{,}9\ z \text{ grammes de triéthanolamine.} \end{array}\right.$$

Afin d'éprouver cette technique, nous avons effectué l'analyse de huit mélanges préparés, à partir de produits purs, et dont nous ignorions la composition.

Les échantillons contenaient, en solutions aqueuses, et sous un volume de 100 cm³, des doses comprises entre 72 et 944 mg d'éthanolamines, certains n'en renfermant qu'une seule.

Nous avons groupé dans le tableau XVI les résultats obtenus.

TABLEAU XVI

Dosage des trois éthanolamines dans divers mélanges.

n os	monoéthanolamine		diéthanolamine		triéthanolamine	
	introduite (en g)	trouvée (en g)	introduite (en g)	trouvée (en g)	introduite en g)	trouvée (en g)
I	0,168	0,175	0,575	0,605	0,220	0,215
II	0,272	1,255	0,472	0,490	0,220	0,215
III	0,072	0,068	0,124	0,136	0,669	0,642
IV	0,272	0,280	0,260	0,285	0,445	0,415
V	0,120	0,114	0,378	0,388	0,356	0,336
VI	0,938	0,908	—	—	—	—
VII	—	—	0,750	0,777	—	—
VIII	—	—	—	—	0,994	0,934

Ces résultats indiquent que nous pouvons déterminer les trois constituants du mélange avec une précision suffisante. Les erreurs oscillent entre 2 et 10 p. 100 ; (erreur moyenne = 5 p. 100).

Remarques —

1) Il est possible d'utiliser pour le calcul, au lieu de la quantité d'acide periodique réduit, celle de formaldéhyde libéré, qui est exactement double.

2) Les sels et les savons obtenus à partir de l'« éthanolamine » étant d'autant moins alcalins et d'autant moins volatils que la proportion de triéthanolamine est plus forte dans le produit, il est facile de concevoir un test rapide qui consiste à déterminer simplement :

soit l'acide periodique réduit,
soit l'ammoniaque ou les aldéhydes libérés.

La valeur obtenue dans cet essai est inversement proportionnelle à la teneur en triéthanolamine.

Conclusions

Nous proposons une technique permettant de doser séparément la monoéthanolamine, la diéthanolamine, et la triéthanolamine dans leurs mélanges commerciaux.

Cette détermination est basée sur le comportement différent de ces amines en présence de l'acide periodique.

CHAPITRE II

DOSAGE DE LA SERINE ET DE LA COLAMINE DANS LEUR MÉLANGE

La nature du composé aminé estérifiant l'acide phosphorique dans les céphalides a été longtemps discutée.

TRUDICHUM [*38*], qui, un des premiers, étudia la composition des phosphoaminolipides, pensait qu'il s'agissait de la choline. Cependant, vers 1913, la plupart des auteurs [PARNAS, *35*; RENALL, *37*] inclinaient pour la colamine.

Seul à l'époque, J. C. MAC ARTHUR [*30*] soutenait qu'un amino-acide était présent dans la molécule de céphalide.

En 1941, J. FOLCH et SCHNEIDER [*25*] identifient effectivement un amino-acide, qu'ils croient être la sérine (1), mais ne contestent pas la présence d'éthanolamine.

La présence de la sérine et de la colamine dans les préparations de céphalides est aujourd'hui admise, et BURMASTER [*7*], dans une récente publication, expose une technique permettant leur détermination dans les hydrolysats de phospholipides.

Cette détermination est basée sur le dosage, par la méthode de CONWAY [*10*], de l'ammoniaque libérée dans l'oxydation periodique des deux composés, la sérine étant dosée d'autre part selon la technique de VAN SLYKE [*39*], à la ninhydrine.

Nous avons mis au point une technique très simple du dosage de la colamine et de la sérine dans leur mélange.

Cette technique, à laquelle les divers tests utilisables semblent devoir conférer une certaine spécificité, nous paraît permettre, avec une bonne précision, la détermination simultanée de la sérine et de la colamine dans les hydrolysats de phospholipides.

(1) Récemment, J. FOLCH (*J. Biol. Chem.*, 1948, 174, 439) a pu isoler du cerveau la phosphatidylsérine, dans laquelle la fonction alcoolique de la sérine estérifie une fonction acide de l'acide orthophosphorique. Une seconde fonction de l'acide phosphorique estérifie l'une des fonctions alcool du glycérol, les deux autres fonctions alcooliques du glycérol étant estérifiées par des acides gras.

La colamine, soumise à l'action de l'acide periodique, subit une attaque dès pH 3,2 (courbe I) alors que la sérine, dans les mêmes conditions, n'est pas oxydée à pH 4,5 (courbe VI). Aussi, avons-nous tenté d'effectuer une oxydation periodique du mélange sérine-colamine vers pH 4,0. En réalité, pour obtenir une oxydation complète de l'éthanolamine, la durée de contact doit être prolongée, de sorte que la sérine subit une oxydation sensible, ce qui ne permet plus d'enregistrer des résultats sélectifs.

D'autre part, il n'est pas possible de se baser sur la détermination immédiate des produits d'oxydation, les deux composés en libérant chacun les mêmes quantités (une molécule d'ammoniaque et deux d'aldéhydes).

Cependant, nous avons vu (chapitre III) qu'au cours de l'oxydation prolongée de la sérine, une des molécules d'aldéhydes — celle d'acide glyoxylique — se trouvait oxydée en acide formique et anhydride carbonique.

L'oxydation de la sérine est alors différente de celle de la colamine — équations (18) et (7) — ce qui peut permettre un dosage différentiel :

$$(19)\quad CH_2OH—CH(NH_2)—COOH + 2\,O = 2\,HCHO + NH_3 + HCOOH + CO_2$$

$$(17)\quad CH_2OH—CH(NH_2)—COOH + O = 2\,HCHO + NH_3$$

Nous avons observé antérieurement que l'attaque de l'acide glyoxylique était achevée après un contact de 48 heures à la température du laboratoire.

Nous avons d'abord vérifié que l'oxydation simultanée de la colamine n'apportait aucune perturbation à cette attaque ; nos expériences ont été effectuées sur le mélange :

Solution M/10 de colamine	.....	2 cm³
Solution M/10 de sérine	.....	2 cm³
Solution N/10 de periodate de sodium	.....	15 cm³
Eau distillée : Q. S. pour	.....	50 cm³

Nous avons dosé, à intervalles de temps convenables :

d'une part l'acide periodique réduit, puis, par cyanimétrie, les aldéhydes libérés,

d'autre part, l'ammoniaque formée.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau XVII

TABLEAU XVII

Oxydation periodique du mélange sérine-colamine

prise d'essai correspondant à { sérine, 1 molécule / colamine, 1 molécule

(p H : 3,0 environ — température 16°).

durée de contact (en heures) :	(1/60)	4	8	24	48
molécules d'acide periodique réduit	(2,0)	2,36	2,57	2,97	3,06
molécules d'aldéhydes libérés	(4,0)	3,69	3,43	3,11	3,02
molécules d'ammoniaque formée ...	(2,0)	2,04	2,02	2,02	2,01

L'examen de ce tableau nous permet de vérifier que, la quantité d'ammoniaque demeurant constante, celle d'acide periodique réduit augmente d'une molécule, utilisée pour l'oxydation d'un des aldéhydes, dont le taux décroît simultanément (courbe XV).

Finalement, après 48 heures à la température du laboratoire, le mélange équimoléculaire sérine-colamine réduit 3 molécules d'acide periodique et libère 3 molécules d'aldéhydes, la quantité d'ammoniaque formée (2 molécules) n'étant pas modifiée.

Détermination de la sérine en présence de la colamine par le dosage de l'anhydride carbonique dégagé

La comparaison des équations (18) et (7) permet de constater que la principale différence entre les deux réactions réside dans la formation d'anhydride carbonique, engendré par la sérine. Nous avons tenté de doser la sérine en présence de colamine par la détermination de ce composé.

Or, nous avons vu — Deuxième Partie, Chapitre II — que la colamine engendre une quantité non négligeable de gaz carbonique ; aussi, la détermination de l'anhydride carbonique dégagé par le mélange sérine-colamine paraît, *a priori*, devoir être affecté d'une erreur par excès...

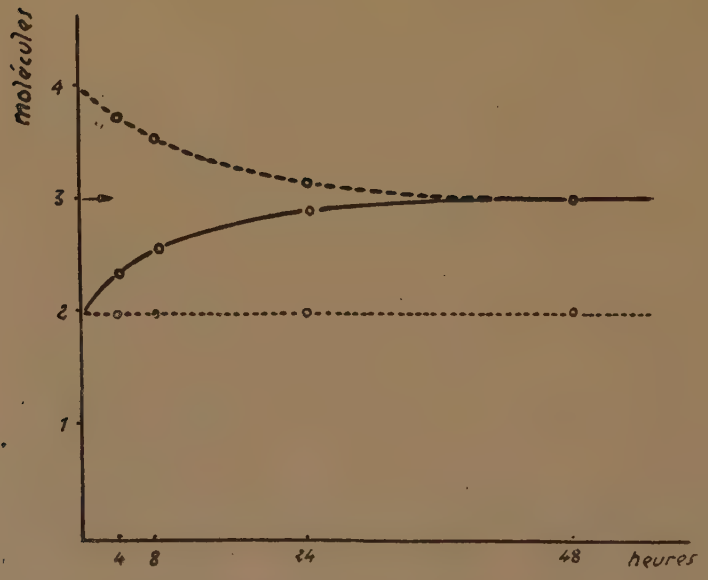
C'est ce que nous avons vérifié : des quantités équimoléculaires de sérine et de colamine, soumises à l'oxydation periodique pendant 48 heures dans l'appareil à absorption précédemment utilisé, dégagent une quantité de gaz carbonique supérieure d'environ 10 p. 100 à la théorie.

COURBE XV

Oxydation periodique d'un mélange sérine-colamine

correspondant à { sérine, 1 molécule
colamine, 1 molécule

(pH : 3,0 environ — température : 16°)



en abscisses : durée de contact (en heures).

en ordonnées : { —— molécules d'acide periodique réduit
- - - - molécules d'aldéhydes libérés
..... molécules d'ammoniaque formée

REMARQUE. — Dans l'appareil de WARBURG, la réaction annexe, qui, vraisemblablement, perturbe l'oxydation de la colamine, se trouve accélérée à la température de 30° à laquelle nous avons opéré, et affecte très sensiblement les résultats (erreur par excès: 15 à 20 p. 100).
Aussi avons-nous dû rejeter cette méthode, qui, à première vue, semblait pouvoir apporter une solution séduisante au problème du dosage de la sérine en présence de colamine.

Analyse du mélange sérine-colamine par détermination de l'acide periodique réduit et de l'ammoniaque libérée

Nous avons finalement mis au point une technique basée sur le fait qu'après une oxydation periodique de 48 heures à la température du laboratoire :

a) une molécule de colamine réduit 1,08 molécules d'acide periodique en donnant naissance à une molécule d'ammoniaque.

b) une molécule de sérine réduit 2 molécules d'acide periodique en donnant également naissance à une molécule d'ammoniaque.

Le problème est donc le même que pour le mélange mono- et diéthanolamine, et se résoud comme précédemment :

$$(34)\quad \text{colamine} = \frac{2\ \text{ammoniaque} - 1\ \text{periodate}}{0{,}92}$$

$$(36)\quad \text{sérine} = \frac{1\ \text{periodate} - 1{,}08\ \text{ammoniaque}}{0{,}92}$$

Sauf en ce qui concerne la durée de l'oxydation (48 heures), la technique est exactement semblable à celle du dosage des deux éthanolamines. Toutefois, le volume de la prise d'essai doit être évalué suivant les proportions des constituants à doser.

Nous exposons ci-dessous une méthode qui nous a permis de déterminer les proportions de sérine et de colamine contenues dans divers mélanges, avec une erreur moyenne inférieure à 4 p. 100.
Les prises d'essais (5 cm^3) correspondaient à des quantités de sérine et de colamine comprises entre 1,1 et 6,3 mg.

Protocole opératoire. — Deux prises d'essai (5 cm³, par exemple) sont introduites, l'une dans une fiole jaugée de 100 cm³, l'autre dans un Erlenmeyer de même contenance. — Un second Erlenmeyer, destiné à contenir l'essai témoin, reçoit 5 cm³ d'eau distillée.

Dans chacun des trois récipients, nous ajoutons successivement :

10 cm³ de solution N/10 de periodate de sodium
5 cm³ de solution saturée de bicarbonate de potassium
20 cm³ environ d'eau distillée.

Après 48 heures de réaction à la température du laboratoire, nous ajoutons dans les trois flacons :

15 cm³ de solution N/10 d'anhydride arsénieux bicarbonaté, et
2 cm³ de solution à 20 p. 100 d'iodure de potassium,

puis nous laissons en contact 10 minutes.

1) *Détermination de l'acide periodique réduit* — L'excès d'anhydride arsénieux est titré dans les 2 Erlenmeyers au moyen d'une solution N/10 d'iode, sans empois d'amidon.

Soit n^1 cm³ versés dans l'essai-témoin
n^2 cm³ versés dans le mélange réactionnel

Les 5 cm³ de mélange ont donc réduit $n^1 - n^2$ cm³ d'acide periodique N/10

Soit $\frac{n^1 - n^2}{2}$ cm³ d'acide periodique M/10

2) *Détermination de l'ammoniaque formée.* — Le volume du liquide, dans la fiole jaugée, est complété à 100 cm³. L'ammoniaque est titrée sur 20 cm³ du mélange, dans l'appareil de Pregl, au moyen d'une solution N/50 d'acide sulfurique, en présence de l'indicateur coloré rouge de méthyle-bleu de méthylène.

Soit n^3 cm³ utilisés ; 5 cm³ de la prise d'essai correspondent à 5 n^3 cm³ d'acide N/50, soit n^3 cm³ d'acide N/10.

Calcul des résultats. — En désignant par x le nombre de cm³ de solution M/10 de colamine contenue dans la prise d'essai, et par y celui de solution M/10 de sérine, nous pouvons écrire, d'après les équations (34) et (36) :

$$\begin{cases} x = \dfrac{2\,n^3 - \dfrac{n^1 - n^2}{2}}{0,92} \\ y = \dfrac{\dfrac{n^1 - n^2}{2} - 1,08\,n^3}{0,92} \end{cases}$$

Or, 1 cm³ de chacune des solutions M/10 contient respectivement :

6,10 mg de colamine
10,51 mg de sérine

La prise d'essai est donc constituée de :

$$\begin{cases} 6{,}1\ x \text{ mg de colamine} \\ 10{,}51\ y \text{ mg de sérine} \end{cases}$$

Nous avons effectué, selon la technique décrite ci-dessus, l'analyse de six mélanges de sérine et de colamine dont la composition nous était inconnue.

Ces mélanges, d'un volume de 50 cm³, contenaient des doses variant entre 0 et 63 mg de composés.

Les résultats obtenus, rassemblés dans le tableau XVIII, se sont révélés satisfaisants dans l'ensemble (erreur maximum : 6 p. 100).

TABLEAU XVIII

Analyse de divers mélanges de colamine et de sérine

	Colamine		Sérine	
échantillons	introduite (en mg)	trouvée (en mg)	introduite (en mg)	trouvée (en mg)
I	36,6	37,7	31,6	30,1
II	18,3	17,6	31,6	32,1
III	0,0	0,0	52,6	53,6
IV	18,3	19,0	63,0	62,6
V	12,1	11,6	31,6	33,2
VI	24,4	25,3	63,0	61,6

REMARQUES. — 1) Il peut être préférable d'utiliser, au lieu de la quantité d'acide periodique réduit, celles d'aldéhydes libérés : les valeurs étant égales, le calcul n'en est pas modifié.

L'analyse peut alors être effectuée sur des prises d'essai très réduites, la détermination des aldéhydes, comme celle de l'ammoniaque, se prêtant à d'excellents microdosages. — La spécificité de la méthode en serait par ailleurs augmentée —.

2) Le titrage alcalimétrique, en présence du colorant R.-B., du mélange sérine-colamine en solutions pures, n'affectant que l'éthanolamine, il suffit de déterminer l'acide periodique réduit pour obtenir, par différence, la quantité de sérine contenue dans le mélange. Mais il est évident que cette technique présente moins de spécificité.

3) Il est possible de concevoir une autre variante de la technique, basée sur la détermination de l'acide formique libéré par la sérine après 48 heures d'oxydation periodique, la colamine étant dosée par différence, ou, éventuellement, par alcalimétrie.

4) Si le mélange contient des glycols (glycérol, inositol) provenant de l'hydrolyse des phospholipides, il doit être possible de doser ces glycols par oxydation periodique, en milieu plus acide que pH 1,0 (nous avons vu que dans un tel milieu, ni la sérine ni la colamine ne sont attaquées.) Nous nous sommes bornés simplement à l'étude du mélange des deux amines, qui d'ailleurs semblent pouvoir être séparées de l'hydrolysat par des réactifs précipitants sélectifs.

NOTE — Rappelons que la choline, qui peut également accompagner la sérine et la colamine dans les préparations des céphalides, n'est pas oxydable par l'acide periodique. [P. FLEURY et GUITARD, *23*].

Conclusions

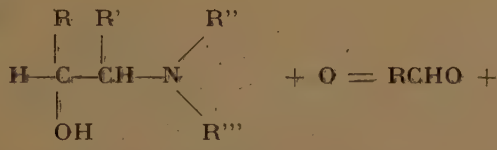
Nous proposons une méthode indirecte du dosage de la colamine et de la sérine dans leur mélange, basée sur la détermination de l'ammoniaque dégagée et de l'acide periodique réduit après contact prolongé.

Cette technique nous a donné satisfaction sur des mélanges en proportions diverses, des deux composés, et paraît être applicable aux milieux biologiques.

CONCLUSIONS GENERALES

Nous avons cherché à préciser l'action de l'acide periodique sur divers composés aminés.

1° — Les amino-alcools α sont oxydés selon une réaction du type :

(37)


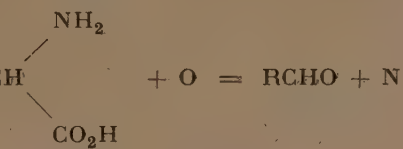
La réaction est très rapide lorsque R'' et R''' sont deux atomes d'hydrogène (fonction amine primaire) : *colamine, méthylaminopropanol, sérine.*

Elle est encore rapide lorsque R'' représente un atome d'hydrogène et R''' le groupement — CH_2 — CH_2OH (fonction amine secondaire) : *diéthanolamine.*

L'oxydation devient très lente si R'' est un radical carboné quelconque et R''' le groupement — CH_2 — CH_2OH. C'est le cas des deux amines tertiaires étudiées : la *triéthanolamine* et la *méthyldiéthanolamine.* Ces deux corps ne réagissent que lentement et incomplètement, l'attaque étant perturbée par des réactions secondaires.

Dans le cas de la méthyldiéthanolamine, la liaison entre le groupe méthyle et l'azote n'est pas rompue : nous avons pu caractériser la monométhylamine formée. Ce fait permet de vérifier que la rupture s'effectue bien selon le schéma indiqué (37).

2° — Les acides α aminés aliphatiques simples (*glycocolle, alanine*) ne sont pratiquement pas oxydés à la température du laboratoire. A 100°, ils sont lentement décarboxylés et désaminés selon la réaction :

(23)


A cette température, l'aldéhyde qui prend naissance et même l'ammoniaque sont attaqués par l'acide periodique.

3° — *L'éthylènediamine* constitue, à notre connaissance, le premier composé organique non oxygéné qui se révèle facilement oxydable par l'acide periodique.

Cette amine est oxydée selon le schéma :

$$(27)\quad \begin{matrix} CH_2 - NH_2 \\ | \\ | \\ CH_2 - NH_2 \end{matrix} \xrightarrow[+\ OH_2]{+\ O} 2\ HCHO + 2\ NH_3$$

L'oxydation, comparée à celle de l'éthylèneglycol, est relativement lente (1) ; de ce fait, la réaction, qui s'effectue d'abord selon l'équation indiquée, se poursuit d'une façon irrégulière, le formaldéhyde libéré réagissant soit sur l'ammoniaque, soit sur l'éthylènediamine non transformée, pour donner des combinaisons oxydables.

4° — Nous avons vérifié l'exactitude des réactions d'oxydation par l'identification et le dosage des composés formés.

Au point de vue des applications analytiques possibles, ces déterminations nous ont permis de constater que seuls sont dosables avec sécurité les dérivés rapidement oxydables ; dans les réactions lentes, les produits d'oxydation peuvent être attaqués par l'acide periodique, ou réagir avec la fraction de l'amine qui n'a pas encore été oxydée.

5° — Pour chacun des composés étudiés, nous avons déterminé l'influence de la réaction du milieu sur la vitesse de l'oxydation par l'acide periodique.

Les courbes obtenues sont très voisines : la vitesse, infime endessous de pH 3,0 — 4,0, croît progressivement quand l'acidité diminue ; elle atteint un maximum vers pH 7,5 — 8,0, puis décroît lentement pour une plus forte alcalinité. L'optimum est plus accentué avec les composés facilement oxydés ; il correspond sensiblement au pH à partir duquel l'amine n'est plus salifiée.

6° — Nous avons tiré parti de nos résultats pour proposer, dans la dernière partie de notre exposé, deux techniques originales permettant de doser certains composés aminés dans leurs mélanges.

A) — Analyse du mélange d'éthanolamines.

B) — Dosage de la sérine et de la colamine lorsqu'elles sont associées.

(1) Nous avons observé, au cours de ce travail, que le remplacement d'une fonction alcool par une fonction amine primaire ralentissait l'oxydation periodique

BIBLIOGRAPHIE

[1] — AWAD, Y., *Th. Doct. Univ. Pharm.*, Paris, 1929.

[2] — BISCHOFF, C. A., *Ber. deutsch. Chem. Gesell.*, 1898, **31**, 3254.

[3] — BOISSON, R., *Th. Doct. Univ. Pharm.*, Paris 1939.

[4] — BON-BERNATETS, G., *Th. Doct. Univ. Pharm.*, Paris, 1936.

[5] — BOUGAULT, J., et GROS, R., *J. Pharm. et Chim.*, 1922, **26**, 5.

[6] — BOYD, M., et LOGAN, M., *J. Biol. Chem.*, 1942, **146**, 279.

[7] — BURMASTER, C. F., *J. Biol. Chem.*, 1946, **1**, 165.

[8] — CARTER, H. E., GLICK, F. J., NORRIS, W. P., et PHILLIPS, G. E. *J. Biol. Chem.*, 1947, **170**, 285.

[9] — CARTER, H. E., et NEVILLE, H. E., *J. Biol. Chem.* 1947 **170**, 301.

[10] — CONWAY, E. J., *Microdiffusion analysis and volumetric errors*, Londres, 1939, CROSBY LOCKWOOD, édit.

[11] — COURTOIS, J., *Ann. Pharm.*, 1944, **2**, 148.

[12] — COURTOIS, J., *Produits Pharmaceutiques*, 1947, **2**, 5 - 11 et 65 - 71.

[13] — COURTOIS, J., *Exposés annuels de Biochimie médicale*, 1948, **9**, 225 - 280, Paris, Masson édit.

[14] — FLEURY, P. et COURTOIS, J., *Bull. Soc. Chim. France*, 1948, 190.

[15] — COUSIN, D., *Th. Doct. Univ. Pharm.* Paris, 1944.

[16] — DESNUELLE, P., ANTONIN, S. et NAUDET, M., *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1944, **26**, 1168 et 1175.

[17] — DESNUELLE, P. et NAUDET, M., *Bull. Soc. Chim. France* **12**, 871.

[18] — FIEVET-GUINARD, Y., *Th. Doct. Univ. Pharm.* Paris, 1945.

[19] — FLEURY, P., *Fiches techniques de chimie biologique,* 3e éd. Paris, 1949, Véga édit.

— FLEURY, P. et BON-BERNATETS, G., *J. Pharm. et Chim.* 1936, 23, 85.

[20] — FLEURY, P. et CARBOU, J., *J. Pharm. et Chim.* 1938, 28, 102.

[22] — FLEURY, P. et COURTOIS, J., *C. R.* 1946, **223**, 633, et *Bull. Soc. Chim. France,* 1947, 358.

[23] — FLEURY, P. et GUITARD, H., *Bull. Soc. Chim. biol.,* 1946, 28, 651.

[24] — FLEURY, P. et LANGE, J., *J. Pharm. et Chim.,* 1933, **17**, 107.

[25] — FOLCH, J., et SCHNEIDER, J., *J. Biol. Chem.,* 1941, 157, 51.

[26] — LAINEY, J., *Th. doct. Univ. Pharm.,* Paris, 1948.

[27] — LANGE, J., *Th. Doct. Univ. Pharm.,* Paris, 1933.

[28] — LANGE, J. et PARIS, R., *J. Pharm* et *Chim.* 1935, **21** - 403.

[29] — LINDSTEDT, G., *Ark. Kem. Min. Geol.,* 1945, **20**, 1.

[30] — MAC ARTHUR, C. J., *J. Amer. Chem. Soc.,* 1914, **36**, 2397.

[31] — MALAPRADE, L., *Bull. Soc. Chim. France,* 1926, **39**, 325.

[32] — MARTIN, A., SYNGE, R. et BELL, E., *Biochem, J.,* 1941, **35**, 294.

[33] — MICHEL, R. et BOZZI, M., *Bull. Soc. Chim. biol.,* 1947, **29**, 884.

[34] — NICOLET, B. et SHINN, L., *J. Amer. Chem. Soc.,* 1939, **61**, 1615.

[35] — PARNAS, J., *Biochem. Zeitschr.* 1909, **22**, 411.

[36] — POETHKE, W., et MANICKE, P., *Zeitschr. anal. Ch.,* 1920, **79**, 241.

[37] — RENALL, M. H., *Biochem. Zeitschr.,* 1913, **55**, 296.

[38] — TRUDICHUM, J. L. W., *A treatise on the chemical constitution of the brain,* Londres, 1884.

[39] — VAN SLYKE, D. et DILLON, R. T., *Compt. rend. trav. Labor. Carlsberg, sér. chim.* 1939, **22**, 480.

[40] — VAN SLYKE, D., HILLER, A., MAC FADGEN, D., DAVID HASTINGS, et KLEMPERER, F., *J. Biol. Chem.,*1940, **133**, 287.

[41] — VAN SLYKE, D., HILLER, A., et MAC FADGEN, D., *J. Biol. Chem.,* 1941, **141**, 68.

TABLE DES MATIERES

Pages

INTRODUCTION 5

PLAN DU TRAVAIL 9

PREMIERE PARTIE

Généralités

CHAPITRE I. — **Schéma général de l'oxydation periodique. Action de l'acide periodique sur les composés aminés** 11

CHAPITRE II. — **Techniques analytiques utilisées.**

1° Détermination de l'acide periodique réduit 15

2° Détermination des aldéhydes libérés 18

3° Détermination de l'ammoniaque formée 21

CHAPITRE III. — **Séparation des trois éthanolamines à partir de leur mélange commercial** 22

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DE L'OXYDATION PERIODIQUE DE DIFFERENTS COMPOSES AMINES

CHAPITRE I. — **Amines primaires.**

a) — *Amino-alcools* :

1° Action de l'acide periodique sur la monoéthanolamine 25

2° Action de l'acide periodique sur l'aminométhylpropanol 32

b) — *Amino-acides aliphatiques à fonction alcool* :

1° Action de l'acide periodique sur la sérine 39

c) — *Amino-acides aliphatiques simples* :

1° Action de l'acide periodique sur le glycocolle 46

2° Action de l'acide periodique sur l'alanine 50

Pages

CHAPITRE II. — **Amines secondaires.**

Action de l'acide periodique sur la diéthanolamine 57

CHAPITRE III. — **Amines tertiaires.**

1° Action de l'acide periodique sur la triéthanolamine 62

2° Action de l'acide periodique sur la méthyldiéthanolamine 66

CHAPITRE IV. — **Diamines.**

Action de l'acide periodique sur l'éthylènediamine 74

TROISIÈME PARTIE

APPLICATIONS ANALYTIQUES

CHAPITRE I. — **Analyse du mélange d'éthanolamines** 89

CHAPITRE II. — **Dosage de la sérine et de la colamine dans leur mélange** 95

CONCLUSIONS GENERALES 103

BIBLIOGRAPHIE 105

VU :
Le Doyen de la Faculté :

RENÉ FABRE

VU :
Le Président de la Thèse :

PAUL FLEURY

VU et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris :

JEAN SARRAILH